REALE ACCADEMIA DEI LINCEI
(ANNO CCXCVI 1900)




# STUDI DI UNO ZOOLOGO

# SULLA MALARIA

MEMORIA

DEL SOCIO

**BATTISTA GRASSI**

CON 9 FIGURE NEL TESTO E 5 TAVOLE

(Pubblicata il 4 giugno 1900).

ROMA
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI
PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI
1900

324 (replace imperfect copy)



Serie 5ª — *Memorie della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali*
Vol. III. — *Seduta del 3 dicembre 1899.*

A

PATRICK MANSON

SCOPRITORE DEL CICLO EVOLVTIVO DELLA FILARIA

GENIALE INIZIATORE DELLE ATTVALI RICERCHE

SVI PARASSITI MALARICI

# INDICE

# AVVERTENZE

Le figure vengono richiamate fra parentesi; servono numeri romani per indicare le tavole, arabi per indicare le figure della tavola rispettiva.

Quando vengono richiamate parecchie figure in ordine progressivo, tra i due numeri estremi della serie s'intercala una linea invece del punto.

Semplici numeri arabi tra parentesi richiamano la bibliografia (pag. 193)

Quando fo uso del plurale, alludo in generale ai miei collaboratori Bignami e Bastianelli, eccetto là dove parlo delle ricerche da me fatte con Feletti nel 1890 e nei capitoli dove tratto della sistematica, dell'anatomia e della bionomia delle zanzare, nei quali ebbi per collaboratore il diligentissimo laureando in scienze naturali Giovanni Noè.

# INTRODUZIONE.

Non occorre che io premetta considerazioni per dimostrare la somma importanza della questione malarica. Come mi diceva l'amico onorevole Giustino Fortunato fin dalla prima volta che ebbi l'onore di incontrarmi con lui, la malaria costituisce il problema essenziale per l' Italia. Infatti è stato calcolato che essa invade quasi due terzi del territorio italiano, tormenta annualmente parecchi milioni di abitanti, ne uccide quindicimila e moltissime migliaia rende inette al lavoro, ovvero invecchia innanzi tempo. Il danno economico prodotto annualmente dalla malaria supera certamente la terribile cifra d'interessi che l' Italia sborsa ai suoi creditori.

Benchè a noi tra le nazioni civili d' Europa tocchi per la malaria un tristissimo primato, tuttavia questa piaga non può dirsi retaggio del nostro paese; essa produce infiniti danni in gran parte del mondo e sopra tutto nelle regioni tropicali.

Si può asserire che la malaria costituisce un gravissimo ostacolo al progresso nei paesi più fertili di tutto il mondo come in gran parte d' Italia.

Di fronte a una questione di tanta gravità naturalmente gli sforzi per combattere la malaria sono stati e sono straordinari.

Empiricamente si scoperse che i luoghi malarici potevano essere bonificati prosciugandoli, e le opere di bonifica in Italia sono state numerose e molte sono ancora in corso.

D'altra parte gli scienziati fecero immani sforzi per tentare di conoscere la natura della malaria; soltanto negli ultimi tempi si arrivò a scoprire il parassita che la produce. Questa scoperta devesi a Laveran: essa venne non soltanto completata, ma rinnovata e per così dire moltiplicata da autori italiani, tra i quali cito Marchiafava, Celli e soprattutto Golgi.

Scoperto così il parassita, restava da vedere come entrasse nel corpo dell' uomo. Si fecero, come è troppo naturale, le più svariate ipotesi le quali ad una ad una caddero per cedere finalmente il posto alla dottrina definitiva degli Anofeli.

***

La parte da me presa nella risoluzione del problema viene precisata nel capitolo: « Cenni storici ».

Qui voglio constatare che io mi son dedicato interamente all' argomento dal 15 luglio del 1898. Fu un lavoro intensissimo e non mai interrotto; in esso fui molto coadiuvato dagli impiegati del mio laboratorio. Si può francamente asserire che in tutti questi mesi non si prese alcun giorno di riposo, e non si risparmiarono fatiche e disagi per raggiungere la meta.

Riguardo alla tanto dibattuta quistione della priorità, dichiaro fin d' ora che io sono stato ispirato dalle geniali ricerche di Manson sulla trasmissione della filaria e dalla teoria dei *mosquitos* alla quale Manson stesso e il suo scolaro Ross avevano tentato di dare una base positiva; però io ho percorso una via da me aperta. Partendo dall' osservazione fondamentale che in Italia vi sono molti luoghi infestatissimi dalle zanzare e punto malarici (*parlo di malaria umana*), conclusi che dovevano incolparsi specie di zanzare, peculiari dei luoghi malarici e, in seguito ad estesi confronti, proclamai come indiziatissimi gli *Anopheles*, benchè in molti luoghi malarici, anche fuori d' Italia, rappresentino appena una esigua parte della falange di insetti succhiatori che vi abitano. Dopo faticosissimi esperimenti, il 22 giugno giunsi alla conclusione dimostrata che la malaria è dovuta soltanto a tutte le specie di *Anopheles*: conclusione che dal 22 giugno in poi riconfermai parecchie volte. Percorrendo la strada mia propria, mi sono imbattuto co' miei collaboratori Bignami e Bastianelli, in molti fatti analoghi a quelli scoperti alcuni mesi prima da Ross per gli uccelli ed ho potuto in parte confutare, in parte considerare come incerti i pochissimi fatti osservati da Ross per l' uomo, fin dal 1897. Ross e Koch dapprima procedettero sperimentando, a quanto sembra, qualunque *mosquito* cadesse loro sottomano; e, sia perchè le specie da sperimentare erano molte, sia perchè non basta far pungere un malarico qualunque da un *Anopheles* per infettarlo, presentando il problema altre incognite inaspettate (gameti capaci di svilupparsi, temperatura opportuna, *Anopheles* non immuni), nè l' uno nè l' altro coi loro tentativi fatti nel secondo semestre del 1898 e al principio del 1899 giunsero alla meta, nonostante che tutti e due, conoscendo le pubblicazioni italiane, sperimentassero anche cogli *Anopheles*. Più tardi, ancora nel 1899, Koch in parte seguì la mia strada consistente nell'esaminare le zanzare raccolte nelle abitazioni dei malarici e giunse a proclamare verosimilissima la colpa degli *Anopheles*: nel tempo medesimo Ross a Sierra Leone battè quasi esclusivamente la mia strada e prontissimamente confermò ciò che io avevo ammesso parecchi mesi prima: essere, cioè, in tutto il mondo malariferi gli *Anopheles*.

Risulta dunque che *la scoperta degli Anopheles malariferi uscì dal mio cervello e che la dimostrazione completa di questa scoperta venne data da me in collaborazione coi dottori Bignami e Bastianelli.*

*Io ho perciò determinato il secondo oste dei parassiti malarici.* Questa determinazione è notoriamente la parte più difficile in questo genere di studî; infatti, di molti parassiti anche comunissimi quale la *Bilharzia*, lo *Strongylus gigas*, ecc., ignorasi il secondo oste, ma di tutti quelli il cui secondo oste è noto, gli zoologi, ogni volta che se ne occuparono, hanno potuto dimostrare tutti gli stadî di sviluppo senza grande difficoltà.

In questi miei apprezzamenti mi confortano i giudizi di persone autorevoli.

Nuttall, che ha pubblicato uno studio storico molto minuzioso e completo sulla questione, conclude che « a Grassi, accanto a Ross, spetta indubbiamente il merito principale nelle ricerche sperimentali sulla trasmissione della malaria coi *mosquitos* ». Si noti che quando uscì questo giudizio (primavera del 1899) non era ancora dimostrato che anche i pochissimi esperimenti di Ross sull' uomo erano inattendibili (perchè in parte almeno sicuramente erronei: quelli da cui deduce che i *Culex pipiens* possono propagare la malaria umana), e che la malaria viene propagata esclusivamente dagli *Anopheles*.

Più recentemente il dott. F. Schaudinn, il ben noto specialista nello studio dei protozoi, e scopritore della generazione alternante dei coccidi, nella Gesellschaft Nat. Freunde zu Berlin, e nel Zoologisches Centralblatt, riassumeva colle seguenti parole il suo giudizio sui miei studî: « Le ricerche cominciate da Ross vennero notevolmente approfondite e allargate dalla scuola italiana, come capo della quale deve esser considerato il Grassi ».

« A Grassi, e alla sua scuola riuscì anche di infettare l' uomo con zanzare artificialmente infettate, ma in particolare appartiene a quest'osservatore il merito di aver stabilito che soltanto peculiari zanzare, cioè quelle appartenenti al genere *Anopheles* sono capaci di propagare la malaria ».

*
* *

Non posso chiudere questi brevi cenni senza porgere i più vivi ringraziamenti e segnalare alla pubblica riconoscenza coloro che mi fornirono i mezzi necessarî per le mie ricerche.

Mezzi relativamente considerevoli e preziosi, perchè giunti nel momento più opportuno, mi vennero forniti dalla Società privata per lo studio della malaria sorta per nobilissima iniziativa dell' on. Fortunato, coadiuvato dagli on. Celli e Franchetti.

Ricevetti sussidî dalle Società ferroviarie Mediterranea, Adriatica e Sicula; la Società Mediterranea dietro il valido patrocinio del mio vecchio amico comm. Scolari, mise a mia disposizione un numero illimitato di biglietti gratuiti, che permisero a me ed ai miei impiegati di fare moltissime escursioni nei luoghi malarici.

Dietro parere del Consiglio Superiore di Sanità ebbi un sussidio (lire mille) dal Ministero dell' Interno. Poco meno di lire quattrocento mi vennero concesse dal Ministero dell' Istruzione pubblica.

A titolo d'onore faccio qui il nome del comm. Bodio il quale, essendosi trovato con me nel momento, in cui le finanze della Società suddetta per lo studio della malaria erano quasi esauste, ed io non sapevo come trovar modo di continuar le

ricerche, sposò la mia causa; e appunto col suo valido patrocinio ottenni i sussidî dalle Società ferroviarie.

Esterno i sensi della mia riconoscenza al sig. dott. Mond che generosamente concorse al pagamento di una parte delle spese per la litografia delle tavole annesse al presente lavoro.

I conti particolareggiati delle spese si conservano nel Gabinetto d'Anatomia comparata della R. Università di Roma, dove possono essere verificati da chiunque ne abbia desiderio.

Sento infine il dovere di ringraziare in modo speciale la signorina dott. Foà, la quale con molta intelligenza mi ha costantemente coadiuvato durante le mie ricerche.

Roma, 11 novembre 1899.

***

Profittando del ritardo avvenuto nella pubblicazione del presente lavoro esprimo la mia gratitudine anche a S. E. Bertolini, il quale mi ottenne dal Ministero dell' Interno nuovi sussidî per completare i miei studî.

Roma, 10 maggio 1900.

---

CAPITOLO I.

## Cenni storici.

Nuttall (32) ha quest'anno stesso pubblicato in un giornale diffusissimo tutte le notizie storiche più importanti sulla teoria dei *Mosquitos* ([a]) come agenti propagatori della malaria. Perciò io qui non potrei fare che una ripetizione superflua.

Alcuni particolari però vogliono essere ulteriormente svolti, e questo è quanto intendo di fare nel presente capitolo.

*
* *

La vecchia teoria dei *mosquitos* era stata rinvigorita e rimessa sul tappeto quando iniziai le mie ricerche.

Già negli autori romani, Varrone, Vitruvio e Columella, si trovano accenni alle zanzare come propagatrici della malaria. Il nostro Lancisi nel secolo passato ammetteva che le punture delle zanzare fossero uno dei veicoli dell'infezione malarica.

Nel 1883 King tornò ad accusare fortemente le zanzare; senonchè nell'anno successivo Stebbins (32) combatteva l'opinione di King dimostrando che « malaria e *Culex* sono ampiamente distinti alla spiaggia del mare, dove molti che lasciano le loro case in città per sfuggire alla malaria, vengono perseguitati dai *Culex* ».

Dopo la scoperta fatta da Manson di un moscerino (*mosquito*) il quale fa da ospite intermedio della filaria del sangue dell'uomo, l'ipotesi dei rapporti tra i moscerini succhiatori e la malaria, diventò, per così dire, tanto naturale che venne messa innanzi da Laveran nel 1891, da Koch nel 1892, da Manson nel 1894 ecc.

Per un momento, io stesso l'accolsi nel 1890, purtroppo però gli sperimenti allora impresi nel mio laboratorio a Catania per dimostrarla, riuscirono negativi. (Oggi so che l'insuccesso si deve attribuire alla specie di zanzare usufruita, che era il *Culex pipiens*).

Questi risultati negativi, insieme ad altre considerazioni (tra le quali primissima la circostanza che vi sono luoghi, i quali dal volgo vengono detti le mamme delle zanzare e che non sono punto malarici), mi allontanarono dall'ipotesi delle zanzare.

Il 1893 va segnalato per una scoperta che, se fosse stata accolta colla fiducia che meritava, avrebbe dovuto confortare fortemente in tutto il mondo scientifico, l'ipotesi delle zanzare. Due autori americani, Smith e Kilborne, scoprirono che la malaria dei

([a]) Nome molto in uso in Germania, in Inghilterra e in molti paesi tropicali per indicare tutti gl'insetti alati piccoli che ci succhiano sangue: in italiano si tradurrebbe moschini o moscerini.

bovini, prodotta da un parassita non molto lontano da quello malarico dell' uomo, viene propagata per mezzo di una sorta di zecca.

Fu specialmente questo fatto che fin dal 1893 condusse Bignami all' ipotesi che esistessero rapporti tra le zanzare e la malaria, ipotesi ch' egli e il collega Dionisi cercarono subito di fondare sopra una serie di osservazioni e di esperimenti.

Il lavoro di Bignami è uscito però soltanto nel 1896, preceduto di pochi mesi da un secondo scritto di Manson e da appunti di Mendini nella Guida igienica di Roma.

Manson, basandosi su ragioni di analogia colla filaria e sopra osservazioni di Ross, ammise che i parassiti malarici arrivati col sangue nel corpo del *mosquito* si moltiplicassero e poi, colla morte del *mosquito*, passassero nell'ambiente esterno per ritornare all' uomo coll' acqua o coll' aria.

Mendini in seguito ad un ragionamento per induzione, concluse che il germe malarico non può penetrare nè coll' aria, nè coll' acqua, e che la sola ipotesi conforme ai fatti è l'*inoculazione* fattaci da un insetto notturno, forse il *Culex pipiens* che ha raccolto i germi malarici dal terreno, o dall' acqua stagnante.

Poco differente fu l' ipotesi di Bignami, il quale però credendo che le zanzare depositino le uova oltre che nell' acqua anche nei luoghi umidi, non trovò contradizione inconciliabile fra la sua ipotesi e quella del terreno. Bignami insiste molto nella sua ipotesi, che non abbandona, nonostante gli insuccessi costantemente seguiti alle sue prove sperimentali.

Nello stesso anno 1896 usciva l' importante opera di Ficalbi sulle zanzare, dalla quale risultava che molte sono le specie pungenti l' uomo.

Nell' inverno 1896-1897 ebbi ripetutamente occasione di trovarmi con Dionisi e con Bignami, e discutere con loro l' ipotesi delle zanzare. Le loro argomentazioni connesse da me colla pubblicazione di Ficalbi, mi fecero tanta impressione che si combinò, per l' estate ventura, che Dionisi avrebbe tentato la riprova sperimentale sugli uccelli nel mio laboratorio. Infatti nel luglio 1897 Dionisi venne da me e cominciò una serie di esperimenti, che poi proseguì nel laboratorio di Anatomia Patologica, essendomi io allontanato da Roma, sopratutto a cagione della mia malferma salute.

Bisogna qui premettere che, come io ho stabilito fin dal 1890, negli uccelli possono trovarsi due generi di parassiti malarici: *Halteridium* e *Haemamoeba* (*Proteosoma*).

Avendo io scoperto nei piccioni l'*Halteridium*, suggerii a Dionisi di sperimentare con questi uccelli domestici e molto resistenti. Purtroppo il mio consiglio gli portò sfortuna, perchè fino ad oggi nessuno è riuscito a dimostrare come si propaghi l'*Halteridium*, mentre con un metodo d' esperimento identico a quello usato da Dionisi, senza difficoltà, come dirò più avanti, Ross dimostrò la propagazione dell' altro genere di parassiti malarici che non troviamo nei piccioni, cioè l'*Haemamoeba*, per mezzo della zanzara più comune di tutte, il *Culex pipiens* (*grey mosquito* di Ross).

Spetta però, lo si noti, a Manson il grandissimo merito di avere suggerito a Ross di rintracciare il parassita malarico e seguirlo dentro il corpo della zanzara.

Nel 1895 Ross fece pungere individui malarici da *mosquitos* e osservò che i parassiti si comportano nell' intestino del *mosquito*, come nel sangue fresco e che

cioè, essi formano i flagelli destinati a penetrare nei tessuti del *mosquitos* per poi ulteriormente svilupparsi. Ricercando quindi nelle larve dei *mosquitos*, vi trovò delle gregarine, che mise in rapporto probabile coi flagelli suddetti. Le pseudonavicelle di queste gregarine, eliminate cogli escrementi, infetterebbero le altre larve dei *mosquitos*.

Aggiungasi fin d'ora che in un lavoro, che non ho potuto consultare (32), evidentemente fatto nel 1897, ma pubblicato soltanto nel 1898, si legge, che Ross trovò simili parassiti e anche parecchi altri protozoi nei *mosquitos* in Sigur; ognuno di essi, egli soggiunse, potrebbe essere una forma dimorfa del parassita malarico.

Nell'ottobre del 1896 Ross pubblicava una serie di esperimenti che si possono riassumere come segue:

Acqua contenente tritume di *mosquitos* nutriti col sangue di un paziente malarico fu somministrata a dieci individui sani. In tre si sviluppò la febbre, in uno di questi forte e accompagnata dai parassiti malarici nel sangue. Acqua contenente le suddette pseudonavicelle fu somministrata a dodici individui; in due si ebbe la febbre, in uno di questi con presenza di corpi somiglianti ai parassiti malarici. Quattro individui sani furono fatti pungere da *mosquitos*; gli sperimenti riuscirono negativi.

Anche gli altri protozoi parassiti trovati, come sopra ho detto, in Signr furono da Ross fatti bere ad un uomo; questi, cinque giorni dopo, fu attaccato dalla febbre (maggio 1897).

Le supposizioni e i fatti di Ross fin qui accennati non sono punto serî, ciò che ammette Ross stesso; e perciò non occorre insistervi.

*
* *

Nell'agosto e nel settembre 1897 egli otteneva alcuni altri risultati che furono esposti in modo poco persuasivo. Perchè su questi risultati negli ultimi tempi fu richiamata l'attenzione, attribuendovi un valore che in realtà non hanno, così credo opportuno riferirli qui in esteso.

Nell'agosto 1897 Ross s'imbattè in peculiari *mosquitos* colle ali macchiate (*dappled-winged Mosquitos*: così li denominò senza accennare nè alla famiglia, nè al genere, nè alla specie), dei quali fornì alcune insufficientissime notizie zoologiche, notando anche che queste sue osservazioni « sulle caratteristiche dei suddetti *mosquitos* non sono state molto accurate », perchè fatte in un'epoca, in cui credeva di poterne trovare molti altri, mentre invece dopo s'accorse ch'erano molto rari. Gli esperimenti con queste specie di zanzare gli diedero un risultato che deve essere qui estesamente riferito.

Otto dei *mosquitos* in discorso punsero un individuo affetto di semilune; quattro vennero uccisi subito dopo che si erano nutriti, per lo studio dei flagelli; altri due uccisi rispettivamente dopo 2 e 4 giorni diedero risultato negativo; due altri infine esaminati rispettivamente dopo 4 e 5 giorni mostrarono delle peculiari *cellule pigmentate* che Ross mise in rapporto coi parassiti malarici basandosi specialmente sulla somiglianza del pigmento (risultato reso pubblico nel dicembre 1897 (33)). « Nonostante molti tentativi fatti non riuscì a procurarsi altri *mosquitos* della stessa specie ».

Avendo Ross antecedentemente, com'egli dice, esperimentato su migliaia di altri *mosquitos* con risultato negativo, supponeva di essere finalmente riuscito a trovare la

vera sorta di *mosquito*, che è capace di servire da oste intermedio ai parassiti malarici. Notisi a questo riguardo che Manson aveva già espresso l'opinione che ogni ematozoo probabilmente ha bisogno di una particolar sorta di *mosquito* funzionante da oste intermedio come deve accadere anche per le varie specie di filaria.

Poco più tardi, cioè nel settembre, Ross si procurava dei *mosquitos* colle ali macchiate, di una varietà piccola e comune (*ordinary mosquito*). « In una ventina di individui esaminati prima che si fossero nutriti o dopo che si erano nutriti con sangue di uomini sani, non riscontrò mai le suddette cellule pigmentate. Due però alla fine punsero un individuo affetto di semilune: uno, ucciso il giorno seguente, non presentò le cellule pigmentate, il secondo invece dopo 48 ore presentò molte cellule pigmentate ovalari lunghe circa 7 $\mu$.

« ... Un centinaio e più di *mosquitos* grigi (*grey mosquitos*) non nutriti o nutriti con sangue di uomini sani o affetti di semilune sono stati dissezionati senza trovarvi le cellule pigmentate, alla fine ne osservai uno nutritosi sopra un paziente terzanario.

« Io giudicavo per molte ragioni che occasionalmente si fosse nutrito sul medesimo uomo per parecchi giorni. È stato ucciso tre giorni dopo, quando doveva essere uscito dal periodo di ninfa da circa una settimana. Il suo stomaco conteneva un gran numero di cellule pigmentate misuranti da 8 a 25 $\mu$ ».

(Brano della pubblicazione di Ross del febbraio 1898) (33).

Aggiungasi che Ross insiste nel notare che le cellule pigmentate del *mosquito* grigio corrispondono esattamente a quelle vedute nei *mosquitos* colle ali macchiate.

Per poter giudicare del vero valore di questi esperimenti è d'uopo aggiungere che dopo aver determinato che l'*Anopheles claviger* in Italia propaga la malaria, lessi molto attentamente le suddette pubblicazioni di Ross venendo alla supposizione che i suoi *mosquitos* colle ali macchiate potevano appartenere a questa stessa specie. Per mezzo del sig. dott. Charles mi rivolsi perciò a Ross, per avere degli esemplari dei *mosquitos* da lui studiati. Egli infatti mi spedì parecchi esemplari di *mosquito* grigio e un esemplare di *mosquito* colle ali macchiate. Ho potuto così stabilire che il *mosquito* grigio è nient'altro che il *Culex pipiens* ([a]) e che il *mosquito* colle ali macchiate è nient'altro che l'*Anopheles superpictus* ([b]). Feci noto il risultato di questi esami a Ross, il quale il 5 febbraio 1899 per mezzo del dott. Charles mi faceva sapere (un accenno se ne leggeva già nella lettera precedente) ([c]) che molti esemplari della specie del *mosquito* colle ali macchiate uguali a quello a me spedito avevano dato risultati negativi in due casi di semilune e in un caso di terzana matura. (Contemporaneamente

([a]) *Nota aggiunta durante la correzione delle bozze.* — Giles (42) pretende che si tratti di una specie completamente distinta e precisamente del *Culex fatigans* Wied. Avendo riesaminati gli esemplari speditimi da Ross persisto nel mio avviso primitivo e asserisco che nessuna delle differenze stabilite da Giles ha valore: esse rappresentano variazioni facili a riscontrarsi anche nei nostri *C. pipiens*, eccetto la differenza nella venatura delle ali, che è un'illusione dovuta a osservazione inesatta.

([b]) *Nota aggiunta come la precedente.* — Quest'*Anopheles* viene a torto descritto da Giles come specie nuova (*A. Rossii*).

([c]) Uso di queste lettere perchè anche le mie notizie private servirono a Ross.

invece io dimostravo con Bignami e Bastianelli che l'*Anopheles superpictus* propaga la malaria umana). Risultati del pari assolutamente negativi egli aveva conseguito con due altre varietà di *mosquitos* colle ali macchiate. Perciò tutti gli esperimenti fatti da Ross in India colle zanzare dalle ali macchiate (*Anopheles?*) diedero risultato negativo alla fine del 98 e al principio del 99. A questo riguardo si tenga ben presente che tra gli esperimenti del 97 giudicati facilmente da Ross positivi e quelli negativi del 1898-99 stanno intercalate le sue buonissime ricerche su uno dei parassiti malarici degli uccelli. Ciò vale a dire che nel frattempo Ross aveva acquistata tutta la pratica necessaria per condurre inappuntabilmente quei suoi esperimenti, che diedero risultati negativi.

Ross nel suo rapporto del maggio 1898 scrive che dopo le sue scoperte sul parassita malarico degli uccelli occorre cercare il secondo oste appropriato per ogni specie di emosporidi. « A giudicare dalle mie passate esperienze, soggiungeva egli, questa ricerca promette di non esser facile » (34).

Questo giudizio, pronunciato dunque dopo i supposti risultamenti positivi del 1897 e dopo la sua brillante scoperta sugli uccelli, fu seguito da un secondo giudizio che si legge nella suddetta lettera del 5 febbraio 1899 di Ross a Charles: cioè dopo i suoi nuovi tentativi sull'uomo colle zanzare dalle ali macchiate, riusciti infruttuosi. « La questione di trovare la peculiare sorta d'insetto per ogni specie di malaria è certamente complicatissima e difficilissima ».

Fa perciò molto meraviglia di leggere in una successiva pubblicazione del 3 agosto 1899 che i risultati da lui ottenuti « rendevano facile di estendere le osservazioni ad altre specie del gruppo ». Queste parole di Ross, si trovano più o meno letteralmente ripetute in altre pubblicazioni di Ross e dei suoi amici. Così, per esempio, il corrispondente della missione Ross nella Sierra Leone scrive: « che, nonostante il chiasso fatto, le ricerche degli Italiani non presentavano alcuna seria difficoltà ». V' ha di più: Ross, mostra ignorare che nel giugno io avevo pubblicato che tutte le quattro specie italiane del gen. *Anopheles* e soltanto esse propagano la malaria, e nella suddetta pubblicazione del 3 agosto egli scrive: « che lo sviluppo delle semilune è stato da lui trovato in India in due specie indeterminate di *Anopheles*, in Italia nell'*Anopheles claviger* » (36).

In un'altra pubblicazione del luglio (33) era andato più avanti:

« Durante parecchi anni io cercai di coltivare i parassiti malarici in molte specie di *mosquitos*, sperimentai molte specie di *Culex* comprese le più comuni; tutti gli esperimenti fallirono; io ho pure sperimentato 5 specie di *Anopheles*, 3 fallirono ma 2 al contrario diedero risultato positivo ([a]). Sfortunatamente questi esperimenti positivi furono i primi fatti e io fui, improvvisamente, portato in un' altra stazione proprio nel punto che li ottenni e perciò non posso dare i nomi precisi delle due specie (*sic*).

([a]) *Nota aggiunta durante la correzione delle bozze.* — Giles riunisce assieme le tre specie che non propagano, secondo Ross, la malaria umana (secondo me, invece la propagano) in un' unica specie: *A. Rossii* (sinonimo, secondo me, di *A. superpictus*) e dice che secondo Ross è « oste intermedio del parassita di una forma di malaria degli uccelli ». Evidentemente in questo secondo punto Giles è in errore. Il primo è importante perchè dimostra quanta poca conoscenza avesse Ross delle varie specie di zanzare.

Tuttavia io so per certo (*sic*) che tutt'e due appartengono al genere *Anopheles* e possono trasportare la malaria umana. Una era una grande specie molto bruna, e l'altra, una piccola specie leggermente bruna: amendue avevano le ali macchiate e i caratteri generici dell'*Anopheles* (*sic*) ». Siccome Grassi e i suoi collaboratori hanno dimostrato successivamente che anche l'*Anopheles claviger* propaga la malaria, « così siamo sicuri che tutte tre le specie di *mosquitos* che propagano la malaria appartengono al genere *Anopheles* ».

« Il *mosquito* grigio nel quale io ho trovato cellule pigmentate probabilmente si era previamente infetto pungendo un uccello ». Può forse negare Ross che questo sospetto gli venne da me messo innanzi?

In una precedente pubblicazione sugli *Annales de Pasteur* (36), Ross aveva tentato di attenuare il valore delle ricerche degl' italiani facendo sapere che io prima di trovare i parassiti malarici in via di sviluppo nel corpo dell'*Anopheles* avevo avuto sott'occhio i suoi preparati, ciò che non è conforme al vero.

È notevole che Ross, se si eccettua la pubblicazione citata per ultima, si guarda sempre bene dal dire che io sono arrivato ad accusar gli *Anopheles* seguendo una via tutta mia propria, indipendentemente dai suoi cenni sul *mosquito* grigio e sul *mosquito* colle ali macchiate.

Questi suoi cenni non potevano in alcun modo guidare le mie ricerche perchè, mi si perdoni la ripetizione, Ross aveva incolpato un *mosquito* grigio, cioè colle ali non macchiate e due colle ali macchiate, senza nemmeno indicare che si trattasse di Culicidi. Ne risultava dunque che potevano propagar la malaria i *mosquitos* colle ali macchiate e quelli con le ali non macchiate. Se si riflette che tutti i *mosquitos* rientrano necessariamente o nell' una o nell' altra categoria, io non so che cosa di preciso si potesse ricavare dai dati di Ross, che non si curò neppure di conservare quei *mosquitos* che gli avevano dato risultati positivi!

Aggiungasi che vi sono *mosquitos* colle ali non macchiate, appartenenti al genere *Anopheles* come vi sono *mosquitos* colle ali macchiate appartenenti al genere *Culex*. In Italia vi sono 5 specie di *Culex* colle ali macchiate, che ritengo incapaci di propagare la malaria. Una di queste specie è così somigliante all'*Anopheles superpictus* che il mio scolaro Noè lo ha denominato *Culex mimeticus*. In Italia è poi comune un *Anopheles* colle ali non macchiate che pure propaga la malaria.

E farei notare in ultimo che Ross imparò da me alla fine del 1898 il nome di *Anopheles*.

Risulta dunque evidente che i dati di Ross non potevano guidare le ulteriori ricerche ancorchè fossero stati inappuntabili.

Ma sono veramente tali?

Ross non ha detto nelle Note del 97-98 (33) che i *mosquitos* dalle ali macchiate, che gli hanno dato risultati positivi, fossero stati allevati direttamente dalle larve: il non aver notato la spiccatissima differenza delle larve, che doveva certamente colpirlo, se avesse allevato veramente gli *Anopheles*, fa pensare che egli sperimentasse con Anofeli che erano stati presi già alati. Il che potrebbe far sospettare che fossero previamente infetti, non essendo ancora dimostrato che soltanto i parassiti malarici dell' uomo e non quelli di altri mammiferi possano svilupparsi negli Anofeli.

La descrizione delle uova fa pensare veramente che Ross sperimentasse cogli Anofeli, ma chi può dire che non ci siano in India all'infuori degli Anofeli altri Culicidi che abbiano le uova a barchetta colle linee radiate indicate da Ross? Chi può dire che tutti gli esemplari di Ross fossero Anofeli piuttosto che in parte Anofeli e in parte Culicidi colle ali macchiate, dal momento che Ross, credendo di potersene procurare molti altri non si occupò di distinguerli esattamente?

L'esperimento di Ross fatto coi piccoli *mosquitos* dalle ali macchiate a tutta prima sembra più persuasivo perchè una ventina di esemplari ritenuti da Ross appartenenti alla stessa specie e non nutritisi di sangue malarico diedero risultato negativo.

È però sempre lecito sollevare dei dubbi: o che Ross avesse sott'occhio differenti specie, o che si trattasse d'individui presi già alati in vita libera, cioè già previamente infetti, o più probabilmente che sia nata qualche confusione negli esperimenti di Ross. Questo dubbio è alimentato dalla circostanza che, contemporaneamente, un *mosquito* grigio, preso mentre si nutriva sopra un terzanario e trovato infetto, venne giudicato (vedi sopra), da Ross nel 1898 indubbiamente propagatore della malaria, come il suddetto *mosquito* piccolo colle ali macchiate. Quest'ultimo era stato ucciso dopo 48 ore e presentava le cellule pigmentate di 7 $\mu$; quel primo era stato ucciso al terzo giorno e presentava anch'esso delle cellule pigmentate misuranti 8-25 $\mu$. Molti altri *mosquitos* grigi, cioè della stessa specie, non nutritisi di sangue malarico si erano dimostrati senza cellule pigmentate. Ciò nonostante, oggi sappiamo che indiscutibilmente nel caso del *mosquito* grigio Ross commise un grave errore: com'egli stesso ammette, è stato tratto in inganno dalla circostanza che anticipatamente il *mosquito* si era infettato di parassiti malarici degli uccelli.

Ciò che non si capisce però è come un simile errore gli sia potuto occorrere perchè appare, dalla citazione surriferita, che Ross sperimentava con *mosquitos* grigi sviluppati in laboratorio e non presi in vita libera!

Valutando seriamente tutte queste circostanze, resta per lo meno incerto che Ross in India abbia veramente allevato i parassiti malarici dell'uomo. La certezza non si avrà mai perchè Ross non ha conservato i *mosquitos* con cui sperimentava.

In ogni modo, anche ammesso, ma non concesso, che abbia veramente allevato i primi stadî del parassita semilunare, ciò non poteva risultare con un certo grado di attendibilità dalle sue pubblicazioni.

È singolare poi che Ross non parli nelle ultime pubblicazioni di quegli altri 15 *mosquitos*, oscuri, colle ali verdognole e macchiate che gli diedero risultati negativi in un caso di semilune (vedi nel *Report* (34) la lista delle recenti ricerche: serie XI). Quest'insetti, dice Ross, erano probabilmente (*sic*) del medesimo genere ma non della medesima specie di quelli che diedero risultati positivi. Noto queste circostanze perchè stando a quanto fin ora ho veduto, i *mosquitos* colle ali macchiate e a riflessi verdognoli appartengono al genere *Culex* e non al genere *Anopheles*, ciò che starebbe a dimostrare che veramente Ross confondeva i *Culex* cogli *Anopheles*.

È infine importante di notare che verosimilmente quel *Culex* che Koch definì come propagatore della malaria degli uccelli non è il *Culex nemorosus*, come pretende Koch stesso, ma forse il *Culex annulatus*, ovvero il *Culex spathipalpis*, con altre parole, un *Culex* colle ali macchiate (pag. 94).

Riassumendo questo minuzioso esame delle Note di Ross, dirò che i pochissimi risultati di Ross ottenuti in India sull' uomo (quattro zanzare in tutto, infette di parassiti nei primi stadî, cioè ancora lontani dalla riproduzione) in parte sono certamente erronei e in parte possono essere o non essere erronei. Non si può dir niente di sicuro perchè manca perfino la prova assoluta che Ross sperimentasse cogli *Anopheles*.

Quanto poi al suo nuovissimo giudizio che dopo i suoi lavori tutto era facile, osserverò:

1°. Che se tutto era facile, non si capisce perchè egli abbandonasse l' uomo per dedicarsi ai parassiti malarici degli uccelli, infinitamente meno interessanti di quelli dell'uomo. Fu detto che a Ross mancasse il materiale, ma certamente ciò è contrario al vero, perchè appena fu informato delle nostre ricerche, subito trovò *Anopheles* e casi di malaria (fine del 1898) e potè ripetere gli esperimenti fatti nel 97, però senza risultato positivo. Neppure Koch, nelle sue due spedizioni in Italia, riuscì ad alcun risultato positivo nonostante tutte le precedenti scoperte di Ross.

2°. Che negli uccelli esistono due sorta di parassiti malarici; come sopra ho detto, Ross guidato dal geniale maestro Manson, ebbe la fortuna di dimostrare che la zanzara più comune, cioè il *Culex pipiens*, propaga uno di questi parassiti malarici. Koch dimostrò facilmente che un altro *Culex* propaga lo stesso parassita. Io controllai senza difficoltà i fatti di Ross sul *Culex pipiens*, ma nè Ross, nè Koch, nè io che impiegai moltissimo tempo e sperimentai le più differenti zanzare, riuscimmo a trovare il ciclo dell' altra sorta di parassiti malarici degli uccelli. Oggi giorno io ritengo che quest'altra specie abbia un ciclo tutto differente, e ciò dimostra che non era nè facile nè lecito indurre, dai fatti scoperti da Ross per un parassita malarico degli uccelli, che gli stessi fatti dovessero ripetersi per l'uomo. Del resto tutto ciò era facilmente concepibile a chiunque conosce quante e quali modalità di ciclo evolutivo presentano tra di loro, per esempio, i varî nematodi, come molti altri parassiti.

Certamente Ross, come dirò più avanti, ha il merito di aver seguìto il ciclo intero di un parassita malarico degli uccelli, ma il volergli perciò attribuire il merito di avere scoperto lo sviluppo dei parassiti malarici dell'uomo, è ingiusto.

Come risulta evidente da quanto sopra ho riferito, l'illustre Manson aveva trasfuso in Ross la fede nei *mosquitos* come propagatori della malaria umana: Ross aveva fatto tutto il possibile per dimostrare la tesi di Manson, ma purtroppo non aveva raggiunto la mèta.

Fu allora che Ross abbandonò la via diretta e si dedicò ai parassiti malarici degli uccelli. Fortunatamente, negli uccelli, io aveva scoperto un parassita malarico molto affine a quello dell'uomo; questo parassita malarico, ancora fortunatamente, si sviluppa nella zanzara più comune, cioè, il *Culex pipiens*, ossia il *mosquito grigio* di Ross. Ancora più fortunatamente Ross si trovava a lavorare in India ad una temperatura elevata, la quale, come ora sappiamo, è estremamente favorevole agli esperimenti. Così è che Ross, seguendo la stessa strada che io avevo inaugurata fin dal 1890 e che Dionisi aveva ripresa nel 1897, trovò, come ripeto, il ciclo del parassita malarico degli uccelli dentro il *Culex pipiens*.

Le ricerche di Ross in parte furono pubblicate in un *Report* (34) portante la data del 21 maggio 1898 e arrivato a Roma nel mese di settembre: in parte furono pubbli-

cate in un secondo *Report* (35) portante la data dell'11 ottobre 1898 e giunto a Roma nel mese di dicembre. Tutti i fatti da lui scoperti furono riassunti in una Nota comunicata alla *British Medical Association* nel luglio 1898 da Manson e pubblicata nel *British Medical Journal* del 24 settembre 1898.

Questi nuovi lavori di Ross contengono descrizioni e figure non atte certamente ad acquistare la fiducia del lettore. I fatti successivi però, come vedremo, provarono che le osservazioni e gli esperimenti di Ross erano esatti, soltanto le così dette spore nere ci si dimostrarono forme di involuzione, semplificando così il problema malarico, cioè, riducendo il modo d'infezione a quello solo stato riscontrato da Ross.

Si consideri a questo riguardo che se fosse stato possibile un altro ciclo, come supposero Ross stesso e Manson, se per esempio, i germi malarici avessero potuto trasmettersi alla prole (Ross, luglio 1899), gli esperimenti d'infezione degli uccelli colla puntura dei *mosquitos* fatti da Ross, sarebbero stati inconcludenti, non essendosi escluso prima che questi *mosquitos* fossero infetti ereditariamente.

Nel primo dei due *Report* citati, Ross conchiude che « essendo state ritrovate cellule pigmentate, simili a quelle ora trovate nel parassita malarico dell'uccello, in *mosquitos* di una specie differente, nutrito esclusivamente di sangue contenente semilune, noi abbiamo ogni ragione di credere che il parassita malarico dell'uomo abbia uno sviluppo nei *mosquitos* come quello di un parassita malarico degli uccelli ». È vero che l'autore richiama l'attenzione sull'importanza delle specie dei *mosquitos*, ma esso però ammette contemporaneamente che uno stesso *mosquitos*, il *Culex pipiens*, possa propagare la malaria dell'uomo e quella degli uccelli.

* * *

Nella primavera del 1898 Koch, reduce dai suoi viaggi nei paesi tropicali, si fermava alcuni giorni a Roma ed esponeva, tra gli altri a me, la sua opinione che i *mosquitos* propagassero la malaria. Io gli opponevo esperimenti contrarî da me fino ad allora fatti e gli soggiungevo che, siccome le zanzare sono comunissime in molti luoghi nei quali non c'è affatto, o manca quasi del tutto la malaria, così si deve ritenere che le zanzare non siano ospiti dei parassiti malarici, ovvero che nei luoghi malarici si trovino zanzare, o altri insetti succhiatori speciali, che mancano nei luoghi non malarici.

Nel mese di luglio uscivano le relazioni dei viaggi di Koch e una sua conferenza nella quale la questione della malaria viene svolta appunto con argomenti tendenti a sostenere la teoria dei *mosquitos*. Koch si basa sull'analogia della malaria colla febbre del Texas e con altre malattie tropicali degli animali e dell'uomo ([a]); secondo Koch non deve essere il *mosquito*, che ha succhiato, il trasmissore della malaria, sibbene la sua prole. Koch cita un'isola indenne da malaria e precisamente l'isola Chole, dove egli ha potuto dormire senza zanzariera ([b]); nella montagna, secondo

([a]) Koch però a torto ritiene già dimostrato che la filaria del sangue venga inoculata dai *mosquitos*.

([b]) Quest'osservazione è incompleta.

Koch, la malaria cessa dove non vi sono più *mosquitos* ([a]). Nelle stagioni dell'anno, in cui vi sono molti *mosquitos*, la malaria è anche più intensa. Koch cita anche alcuni fatti tendenti a dimostrare che preservandoci dai *mosquitos* ci preserviamo anche dalla malaria; sono però fatti di ben poca importanza perchè incompletamente osservati.

Koch ricorda pure che certi negri denominano ugualmente il *mosquito* e la malaria: essi credono che questa malattia venga loro inoculata dai *mosquitos*. Si noti qui di passaggio che di una simile credenza si possono trovare le tracce in svariati altri popoli, anche in Italia, in America, ecc.

Le mie ricerche, le quali, per quanto ho detto e come risulta da una pubblicazione di Dionisi (56), *non furono punto promosse* da Koch (a torto fu asserito il contrario), cominciarono il 15 luglio 1898. Il mio punto di partenza è stato quello stesso che avevo già accennato a Koch come sopra dissi, che, cioè, se la malaria viene propagata dai *mosquitos*, devono essere colpevoli peculiari specie di questi insetti, proprie dei luoghi malarici. Avendo già stabilito fin dal 1890 che vi sono luoghi sani per l'uomo e malarici per gli uccelli e che le specie di parassiti malarici degli uccelli sono differenti, per quanto prossime a quelle dell'uomo, e sapendo per lunga esperienza che in questi studî gli argomenti per analogia non valgono, lasciai in disparte gli uccelli e mi dedicai interamente all'uomo. Con mia somma sorpresa, fin da principio trovai nei luoghi malarici delle zanzare, le quali mancano assolutamente nei luoghi non malarici. Prontamente intesi la necessità di non restringermi ai culicidi, ma di considerare anche tutti gli altri insetti, succhiatori di sangue, o, come si dice, ematofagi. Venni infine alla conclusione che se regge l'asserzione che là dove c' è malaria, si trovano sempre zanzare e altri insetti ematofagi, non regge la proposizione inversa; perchè dove ci sono zanzare e altri insetti ematofagi, può mancare la malaria. Le zanzare dei luoghi malarici però sono per lo più soltanto in piccola parte uguali, in grandissima parte invece differenti da quelle dei luoghi non malarici. Questo fatto veniva a togliere la più grande obbiezione che si potesse opporre alla teoria delle zanzare.

Determinato il fatto generale, mi addentrai nello studio delle specie e cercai di stabilire quali forme dovessero ritenersi essenzialmente sospette.

Per questo processo indiziario tenni presenti gl' insetti ematofagi specifici dei luoghi malarici, poggiandomi anche sulle tre seguenti considerazioni:

1°. Essendo i casi di malaria terribilmente frequenti in molti luoghi malarici, gl' insetti propagatori della malaria in questi luoghi dovevano pur essere molto frequenti, e perciò gl' insetti ematofagi più frequenti dovevano essere molto più sospetti.

2°. Questi insetti più frequenti, se si trovavano costantemente in tutti i luoghi malarici, diventavano ancora più sospetti.

3°. La frequenza di questi insetti, se coincideva con l'epoca in cui i casi di malaria erano più frequenti, li rendeva non soltanto sospetti, ma addirittura enormemente sospetti, elevandoli al grado di vere spie della malaria.

([a]) Quest'osservazione dev'essere inesatta.

Il processo indiziario condotto sotto questi tre punti di vista (in tutta l'Italia compresa la Sicilia e la Sardegna) portò alla conclusione che *la specie di tutte la più sospetta è una che il volgo denomina moschino o zanzarone e gli scienziati appellano* *Anopheles claviger* ([a]).

Enormi sospetti colpiscono in settembre anche il *Culex penicillaris*.

A Maccarese, nell' epoca della malaria grave, è molto comune una zanzara, nel 1898 allo stesso Ficalbi ignota, che io ho denominato per le condizioni del luogo in cui vive *C. malariae* (sinonimo probabile di *Culex vexans*). Anch'essa deve ritenersi sospetta.

Contemporaneamente facevo altre osservazioni sui costumi sopratutto dell'*Anopheles claviger*, tendenti a dimostrare che essi potevano spiegare benissimo parecchi fatti epidemiologici della malaria. Facevo inoltre un serio tentativo di preservazione di una famiglia, il quale mi conduceva sempre più alla convinzione che basta preservarsi dalle zanzare per preservarsi dalla malaria.

Giunto a queste conclusioni, per continuare le mie ricerche e sezionare molte zanzare conservate, provenienti da camere dove s' erano sviluppati casi di malaria, tornai a Roma il 25 settembre 1898. Quivi non si parlava d'altri che di Koch il quale si trovava in Italia dal giorno 12 agosto, a capo di una spedizione scientifica per lo studio della malaria; tutti assicuravano ch'egli in 50 giorni aveva risolto il problema malarico, trasformando in realtà la teoria delle zanzare.

Invece Bignami, colla sua camera delle zanzare, dove faceva dormire individui che venivano punti da zanzare sviluppatesi da acqua presa in luoghi malarici, non aveva ottenuto che risultati negativi! Bignami pur avendo l' ipotesi buona in mano, s' era fermato sulla porta senza poterla aprire!

Davanti ai pretesi grandi risultati di Koch io raccolsi i miei pensieri, e mi decisi di fare una pubblicazione, la quale in ogni modo avrebbe dimostrato che anch' io m' ero messo sulla buona strada e che con un po' più di tempo sarei riuscito a fare quanto Koch aveva fatto più celeremente, favorito com' era dai mezzi più larghi, fino ad avere a sua disposizione un funzionario altissimo dello Stato, cioè l'attuale Direttore dei laboratori di sanità del Regno d' Italia.

Così è che il 29 settembre uscì la mia prima Nota, nella quale io per induzione accusavo sopratutto l'*Anopheles claviger*.

La inviai subito a Koch.

Mentre attendevo alla pubblicazione della Nota, per iniziare il più presto possibile le ricerche sperimentali, aveva trovato opportuno di non continuare più a lavorare da solo e mi era associato con medici che disponevano di sale dell'ospedale di Santo Spirito, cioè con Bignami e Bastianelli. Mi ero messo perciò d'accordo con Bignami per ritentare insieme la prova finora non riuscita perchè, secondo me, non si erano usate le zanzare da me determinate. Avevo anche proposto a Bastianelli di studiare insieme il destino dei parassiti malarici nel corpo delle zanzare, ecc.

([a]) « Può definirsi vero indice, vera spia della malaria. I rapporti tra l'*Anopheles claviger* e la malaria sono così sorprendenti che veramente impongono e conducono alla persuasione che tra di loro debba esistere un nesso. Si può aggiungere che l'ambiente palustre è necessario allo sviluppo di questa specie ». Pubblicazione del 29 settembre 1898.

Urgeva lavorare, e ci eravamo messi all'opera pieni di entusiasmo.

Questo entusiasmo non era però diviso da Koch, il quale facendo il 2 ottobre coi due suoi assistenti professori Pfeiffer e Kossel una visita di congedo ai medici romani, si esprimeva press'a poco in questi termini:

« Nella celebre foresta dei dintorni di Berlino (*Grunewald*), stata in parte « abbattuta per popolarla di sontuose ville, in questo luogo che è uno dei più sani « del mondo, verso sera quando si sta seduti in giardino, gli *Anopheles* vengono « spesse volte a pungerci. Nella stessa camera da letto del villino del Koch ci « sono gli *Anopheles*. Grassi ha perfino sbagliato a classificarli: essi sono denomi- « nati scientificamente *A. maculipennis* e non *A. claviger* ». Evidentemente Koch ignorava che *A. claviger* e *A. maculipennis* sono sinonimi!!

Siffatto giudizio, riferitomi dietro espressa preghiera di Koch, doveva naturalmente produrre, come produsse infatti, una sosta che riuscì in parte fatale, perchè la stagione più opportuna era alla fine. Dall'ambasciata di Koch io dovevo dedurre - e chi avrebbe pensato altrimenti? - che Koch avesse dimostrato che l'*A. claviger* fosse innocente.

Ciò, mi dicevo io, senza dubbio doveva risultare a Koch *per esperimenti diretti*, non già in base a confronti, perchè questi confronti non erano leciti. Appunto per ciò, pur non ignorando la frequenza registrata da Ficalbi stesso dell'*A. claviger* nell'Europa media, io non avevo trovato in questo fatto un'obbiezione alle mie induzioni soprariferite. E infatti, pur ammessa l'identità della specie suddetta italiana e tedesca (fatto oggi da me dimostrato, ma sul quale allora esisteva qualche dubbio), le notevoli differenze di temperatura, trattandosi del passaggio di un parassita da un animale a sangue caldo ad uno a sangue freddo, com'è la zanzara, bastavano a spiegarci una certa difficoltà di propagarsi della malaria nella Germania settentrionale e quindi la mancanza della malattia nel *Grunewald*, nonostante la presenza degli *Anopheles*.

Nè va taciuto che in Germania non accade facilmente, come in Italia, che individui malarici non si curino punto: da ciò un'altra circostanza che tende a impedire in Germania la diffusione della malaria. Non è del resto impossibile che da un giorno all'altro scoppi anche in quel lembo di paradiso un'epidemia di malaria che ne metta in fuga i fortunati abitatori.

Purtroppo io ritenevo dunque che Koch avesse sperimentato con esito negativo l'*A. claviger*, e, data questa prova negativa, il mio processo indiziario doveva rivolgersi ad altre specie che fors'anche mi erano sfuggite. Fortunatamente dopo pochi giorni mi si affacciò un fatto che riuscì come un lampo in una notte tenebrosa. Il povero mio inserviente, il quale con tanto zelo mi aveva fin'allora aiutato, fu assalito dalle febbri malariche. Era una disgrazia, la quale mi fece però esclamare che tutto il male non viene per nuocere, perchè io ero sicurissimo che egli era stato punto soltanto dalle tre specie da me incriminate. Se si legge la seconda edizione della mia Nota, uscita sul *Policlinico* ai primi di ottobre, vi si trova appunto aggiunto anche questo fatto (vi si legge anche la suddetta osservazione riguardante la temperatura).

Pochi giorni dopo, parecchi giornali politici italiani davano come scoperta di Koch un sunto mal fatto della mia Nota, da Koch stesso giudicata nel modo che ho accennato poc'anzi.

Questo annuncio mi fece credere che in realtà la mia induzione fosse almeno in parte giusta, perciò guardavo pieno di fiducia l' *experimentum crucis* che avevo cominciato con Bignami, prima della partenza di Koch ([a]).

Ai tanti risultati negativi di cui precedentemente ho parlato, ora che si adopravano le zanzare veramente capaci di produrre la malaria, doveva finalmente succedere un risultato positivo. Ma questo risultato tardava troppo: si cominciava a dubitare: Bignami ormai non si occupava più di far portare nuove zanzare nella camera d'esperimento ed io continuavo a torturarmi il cervello per spiegarmi come mai la malaria risparmiasse gli individui che si facevano pungere dalle zanzare malariche.

Gli *Anopheles* a Maccarese sembravano tutti ritirati nelle case ed erano relativamente poco numerosi. All'aperto invece si vedevano sempre dei *Culex penicillaris* e *malariae*. Questi appunto si raccoglievano a Maccarese e si spedivano a Roma in vasi di vetro, che venivano aperti nella camera abitata dai due individui che dovevano subire le punture.

Io mi domandavo se lo strapazzo del viaggio, e la chiusura nel vaso ecc., non potessero provocare l'uscita della saliva e quindi dei germi malarici. Architettavo anche altre ipotesi più strane e sempre speravo, ma invano. Ero perciò deciso di rifar subito gli esperimenti in luogo più opportuno. Fortunatamente per una inveterata abitudine di completare sempre gli esperimenti, ancorchè riescano negativi, per potersene poi a suo tempo valere, circa il 20 ottobre feci liberare nella camera un vasetto che conteneva pochi *Anopheles claviger* ([b]) nei quali Koch mi aveva fatto perdere la fiducia, come sopra ho detto. Io volevo soltanto poter stabilire che si erano tentate con risultato negativo tutte e tre le sorta di zanzare da me incriminate. Ma per fortuna l'esperimento non doveva riuscir negativo, e infatti il giorno primo novembre potemmo vantare il primo caso d'infezione malarica, sviluppatasi colla puntura delle zanzare da me incriminate. Ripeto che esse erano state raccolte in luogo malarico, portate a Roma e liberate in una camera d'un piano superiore dell'ospedale di S. Spirito, luogo certamente immune da malaria.

Un uomo, che non aveva mai sofferto di malaria in vita sua, dormendo in questa camera, per solo effetto delle punture delle zanzare portatevi, cadde malato di malaria ([c]). L'esperimento era unico, ma assoluto ([d]). Così nella diga che proteggeva il gran mistero della malaria si era finalmente formato un crepaccio.

([a]) Bignami nel pubblicare questo esperimento non ricordò che io gli avevo proposto di farlo senza esserne richiesto e non fece sufficientemente spiccare che in realtà l'esperimento veniva fatto insieme.

([b]) Questi *Anopheles*, che erano stati da me stesso raccolti a Maccarese, furono introdotti proprio il 19 o il 20 ottobre.

([c]) Bignami dimenticò di notare che il malato, il quale s'infettò di malaria soffriva, prima degli sperimenti, di tanto in tanto di qualche leggera febbre, certamente non malarica. Occorreva pure, per fare intiera la storia, aggiungere che erano stati messi, col consenso del mio collaboratore, nella camera del malato alcuni vasi con pianticelle per tenere vive le zanzare.

([d]) Le mie esperienze precedenti davano la risposta ad una obbiezione che si poteva fare e che io ho accennata in una mia pubblicazione (15). « Altri osserva: nella camera in cui si fece l'esperimento si trovavano molte zanzare morte, disseccate, più o meno polverizzate: perchè non potreb-

Siccome Koch non aveva ancora pubblicato nulla, e le indiscrezioni dei giornali politici ([a]) si erano nel frattempo dimostrate senza fondamento, così annunziammo subito la buona novella.

Svariati furono i commenti fatti dalla stampa di tutto il mondo al nostro annunzio. Non li raccoglierò.

Di uno di essi, però, che ci tocca troppo dolorosamente, non posso qui tacere. Si disse che noi eravamo inumani, sperimentando sopra un uomo, ancorchè egli si fosse offerto spontaneamente con piena cognizione del pericolo a cui andava incontro, e fosse stato curato e guarito prontamente. Ma dico io: non è forse lecito col mandare quanti uomini si vogliano in un luogo malarico a raccogliere le messi, infettarne la maggior parte di malaria, per un utile traducibile in poche lire?

Se così è, saremo noi colpevoli procurando la malaria per un alto scopo scientifico a un individuo, date le condizioni sopra indicate?

Pareva anche a taluni che noi procedessimo empiricamente, e che bisognasse seguire il parassita dentro il corpo della zanzara per vedere che cosa ne succedesse!

Veramente non mi sembrava di essere stato un empirico: avevo determinato le specie incriminabili, poi con Bignami avevo determinato che la loro puntura poteva sviluppare la malaria; il resto naturalmente doveva venir dopo. Ci mettemmo difatti all'opera in tre, cioè io, coadiuvato da Bignami e Bastianelli.

L'impresa che avevamo assunta era però più difficile di quanto si sarebbe creduto a tutta prima.

Fortunatamente dal 20 al 30 ottobre nei dintorni di Roma i *Culex penicillaris* e *malariae* andarono diventando sempre più rari, e, a partire dal 10 novembre non se ne trovò più quasi nessuno, mentre continuavano a manifestarsi infezioni malariche indiscutibilmente nuove in individui ivi venuti di recente da luoghi sani. Osservai inoltre a Lentini di Sicilia, che la malaria infieriva nei mesi di ottobre e di novembre, senza che fosse possibile di riscontrarvi i *C. penicillaris* e *malariae* (8). Questi fatti indiscutibili, tendenti a farmi credere che i *penicillaris* e *malariae* non fossero colpevoli ([b]), ripristinarono tutta la mia fede negli *A. claviger* e mi persuasero interamente che o la malaria era propagata dagli *A. claviger*, o la teoria delle zanzare doveva rifiutarsi; perchè questa seconda parte del dilemma non era accettabile, doveva esser vera la prima, nonostante l'opinione di Koch. Intanto io continuavo a raccogliere *Anopheles claviger*, mentre Bignami e Bastianelli seguitavano a

---

bero i germi malarici sviluppatisi dentro le zanzare, essersi sollevati nell'aria ed aver propagata la malaria per proprio conto indipendentemente dalle punture? A parte l'inverosimiglianza di una simile obbiezione, sta il fatto che a Rovellasca parecchi individui ebbero occasione di dormire per molti giorni in ambiente dove si trovavano zanzare (*Anopheles*) morte e polverizzatesi, senza che in alcuno di essi si sviluppasse la malaria ».

([a]) I giornali politici si sono molto occupati dei lavori di Koch, perciò chi fa la storia deve tenerne conto. Del resto i particolari qui riferiti non mi sembrano inopportuni poichè spiegano l'andamento de' miei lavori e giustificano le numerose Note preliminari.

([b]) A confortarmi in questa credenza concorreva anche il seguente fatto: I cacciatori che si recarono a Maccarese nella seconda metà di settembre e nelle prima metà di ottobre, ne furono tutti tormentati orribilmente; eppure nessuno per quanto io so, si ammalò di febbri malariche!

far pungere con essi individui malarici, sempre però senza risultato perchè urtavano contro altre incognite, delle quali ragioneremo più avanti.

Finalmente, a furia di tentare, trovammo il primo tratto del ciclo evolutivo d' un parassita malarico umano (9) dentro il corpo dell' *A. claviger*, come dimostra la nostra pubblicazione del 4 dicembre.

Alacremente lavorando, già il 22 dicembre potemmo mandare alla luce un' altra pubblicazione, nella quale io, Bignami e Bastianelli precisavamo tutto il ciclo, che esporrò in questo lavoro.

Poco prima i giornali politici avevano pubblicato che Koch stava per rendere di pubblica ragione i risultati della sua spedizione in Italia; ma questa pubblicazione, al contrario, non compariva mai.

Si fece aspettare fino al 2 febbraio 1899; portava però la data del 17 novembre 1898 (24). Questa data era molto comoda, perchè permetteva fino ad un certo punto a Koch di giustificare il suo silenzio sulle nostre scoperte.

Le scoperte di Koch si riducevano dunque (tacendo di altre poche osservazioni in parte inesatte) come sopra ho accennato, a una conferma parziale di quanto aveva osservato Ross sugli uccelli, che, cioè, un genere di parassiti malarici degli uccelli si propaga per mezzo di un peculiare dittero succhiatore. Così venivano deluse le nostre aspettazioni e restava soltanto la meraviglia che Koch avesse ardito far la sua pubblicazione senza tener conto delle nostre, che pur gli erano note e che forse gli avevano giovato a qualche cosa. La nostra meraviglia crebbe ancor più quando venimmo a sapere che gli amici di Koch sollevavano dubbî sulla sincerità dei risultati a cui noi eravamo pervenuti. Perciò, in un nuovo resoconto dei nostri studî sulla malaria comunicato ai Lincei nella seduta del 5 febbraio, pubblicavamo che « i preparati dimostranti i fatti esposti nelle nostre Note preliminari sono visibili, a chi s' interessa, nell' Ospedale di S. Spirito e nel Laboratorio di Anatomia Comparata dell' Università di Roma ».

Nè Koch, nè alcuno della sua scuola si fece mai vivo.

Ciò non toglie che i sospetti contro di noi continuassero. Ancora il 28 maggio 1899, il dott. Libhertz a Francoforte sul Meno, in seno alla Società Senckenbergiana, teneva un discorso solenne sulle grandi scoperte di Koch e soggiungeva, secondo i giornali politici, che gli studiosi italiani hanno già fatto esperimenti sull'uomo e pretendono di essere arrivati a risultati positivi in favore della teoria dei *mosquitos*, ma naturalmente della giustezza di queste osservazioni è ancora necessaria la conferma. « Augurava quindi a Koch di togliere l' ultimo mistero che ancora regnava sulla natura di quel terribile flagello che è la malaria » ([a]).

Io non posso che dolermi con tutta la forza del mio animo per questo modo di procedere di Koch e della sua scuola, molto più che Koch fin dal 25 aprile si trovava a Grosseto (vicino a Roma).

([a]) *Nota aggiunta durante la correzione delle bozze.* — Ai primi di novembre comparve anche la conferenza di Libhertz del 28 maggio, della quale sopra si è fatto cenno. Essa non contiene nulla di nuovo; soltanto i dubbi sulle nostre ricerche appaiono poco meno gravi di quanto riferivano i giornali politici.

Tutto il 1899 venne da me dedicato alla malaria.

Lavorai insieme con Bignami e Bastianelli fino al maggio 1899, pubblicando due nuove Note all' Accademia dei Lincei nel febbraio (10) e nel maggio (11); riunimmo quindi assieme le ricerche fatte in comune nella Memoria pubblicata dalla Società per gli studî della malaria col titolo: *Ciclo evolutivo delle semilune nell' Anopheles claviger* ed *Altri studî sulla malaria dall' ottobre 1898 al maggio 1899 di* B. Grassi, A. Bignami e G. Bastianelli (7).

Da questa nostra Memoria risulta che la malaria umana viene propagata dagli *A. claviger*, *superpictus*, *bifurcatus* var. *nigripes*.

Contemporaneamente Bastianelli e Bignami facevano due pubblicazioni (3) sullo sviluppo dei parassiti della terzana, e sulla struttura dei parassiti malarici (in ispecie dei gameti e dei parassiti estivo-autunnali).

Nel primo di questi lavori vengono riferite in esteso osservazioni ed esperimenti ai quali io presi una parte notevole, come risulta dalle nostre Note preliminari.

Purtroppo non posso quasi in alcun punto uniformarmi a quanto gli autori aggiungono di nuovo.

Nella pubblicazione sulla struttura dei parassiti malarici modificano ciò che essi avevano precedentemente (1893) pubblicato e riconoscono che io e Feletti (1890) avevamo ben veduto il nucleo dei parassiti malarici. Mi sembra però che ciò dovesse venir posto in miglior luce, molto più che sono parecchi i punti di riscontro tra il loro lavoro e il nostro.

Se peraltro mi sia concesso di esporre francamente il mio giudizio, debbo dire che come il nostro metodo del 1890, così quello di Romanowski usato dai suddetti autori, non ci dànno pieno affidamento nelle difficilissime quistioni citologiche riguardanti il parassita malarico.

Nella sopra citata Memoria pubblicata in comune con Bignami e Bastianelli si legge che essa è stata pubblicata per aderire al desiderio della Società che ci ha fornito i mezzi pecuniari di studio e che viene riserbato ad altro lavoro lo studio della fine struttura del parassita.

Veramente io avrei voluto metter più in chiaro che il lavoro non aveva alcuna pretesa citologica. Perciò devo qui dire che i metodi di conservazione da noi usati non erano opportuni, perchè specialmente la formalina produceva alterazioni gravissime; sicchè le figure da noi allora pubblicate in non piccola parte corrispondono a preparati imperfetti, non ostante che siano scrupolosamente esatte.

Perciò appunto io mi sottoposi all' ingrata fatica di rifare tutto il lavoro, come si vedrà in appresso.

Mi preme di far notare che le molte differenze notate da Bignami e Bastianelli tra i parassiti della terzana e quelli delle febbri estive-autunnali sono appunto in parte non piccola dovute ai metodi di conservazione, che erano imperfetti, sebbene in parte sieno dovuti anche al non aver avuto materiale sufficiente. In particolare poi mi occorre rilevare come la loro figura che dovrebbe rappresentare una cellula di glandola salivare, rigonfiata, senza nucleo riconoscibile, contenente sporozoiti tozzi e raccorciati, per me non rappresenta altro che una delle tante alterazioni a cui va soggetto il secreto delle glandule salivari.

Come si vedrà più avanti, il termine nucleo per i parassiti della terzana nel corpo dell'*Anopheles* viene adoperato dagli autori suddetti per indicare il corpuscolo nucleoliforme (Grassi e Feletti), recentemente denominato cariosoma.

Per mio conto pubblicai due altre Note preliminari (17 e 18) (22 giugno e 17 settembre). Nella prima venni alla conclusione che la malaria umana viene propagata anche dall'*Anopheles pseudopictus* e dall'*Anopheles bifurcatus* tipico, e perciò da tutte le specie italiane del genere *Anopheles*. Io escludevo sperimentalmente ogni altro insetto. Infine concludevo: che dalla circostanza che tutte le specie italiane del genere *Anopheles* propagano la malaria, è ben lecito indurre che tutte le specie di *Anopheles* di qualunque paese possono essere malarifere, date le condizioni opportune di temperatura.

Colla seconda Nota colmai una lacuna che esisteva nei precedenti lavori: cioè determinai ciò che succedeva dei parassiti malarici prima che penetrassero nelle pareti dell' intestino: vidi, cioè, formarsi il vermicolo (zigote) e lo seguii fino all'entrata nell' epitelio intestinale.

Con un opuscolo popolare feci note anche una quantità di osservazioni sui costumi degli Anofeli, ciò che avevo già in parte accennato nelle Note preliminari.

Non posso passare sotto silenzio le esatte ed accurate ricerche fatte per proprio conto da Dionisi sui parassiti malarici dei pipistrelli e sull' andamento della stagione malarica in rapporto colla nuova dottrina. Egli aveva la bontà di tenermi informato dei risultati a cui giungeva, anche prima di pubblicarli. Ne ho così potuto ricavare grande giovamento. Abbiamo pubblicato insieme una Nota sui gameti dei parassiti malarici (12).

Ho parlato di lavori italiani: non eravamo però noi soli a lavorare. Infatti come ho già accennato di sopra, il 25 aprile ritornò in Italia la spedizione Koch ed io ne fui lietissimo, persuaso che essa avrebbe interamente confermato le conclusioni delle nostre ricerche comunicate all'Accademia dei Lincei e da noi dimostrate anche cogli esperimenti e coi preparati alla mano a chiunque se ne fosse interessato.

I grandi mezzi di cui disponeva Koch per proprio conto, le facilitazioni procurategli dal governo italiano senza riguardo a spesa alcuna, gli appianavano moltissimo quel cammino che per noi era stato sempre seminato di triboli e di spine. Mi aspettavo perciò un pronto *effatum*, ma le mie speranze tardarono molto a realizzarsi. Soltanto nella prima metà di settembre il mondo scientifico ha potuto essere informato del terreno conquistato dalla spedizione Koch con due pubblicazioni, una nella *Zeitschrift für Hygiene* 32. Bd. 1. H., uscita l' 8 settembre 1899 (senza data speciale per il lavoro del Koch) e l' altra nella *Deutsche Medicin. Wochenschrift* uscita il 14 settembre 1899 (parimenti senza data speciale).

Col primo lavoro annichilisce tutte le nostre ricerche dichiarandole incomplete e non provative. Perchè? Perchè egli non ha trovato nell'*Anopheles maculipennis* (*claviger*) i vermicoli (oocineti) nelle prime 36 ore dopo che questo aveva succhiato sangue con semilune: le semilune erano ancor riconoscibili ma in via di distruzione. Egli ha inoltre ritrovato nelle ghiandole velenose (salivari) dell'*Anopheles* stesso sporozoiti che certamente non appartengono ai parassiti malarici dell' uomo, perchè le suddette zanzare in parte provenivano da luoghi non malarici

e in parte erano state prese in luoghi malarici, ma nella stagione fredda. « Queste ricerche dimostrano che dobbiamo guardarci dal ritenere tutti i parassiti coccidiiformi e gli sporozoiti che per caso s' incontrano nelle zanzare come appartenenti senz' altro ai parassiti malarici dell' uomo. Noi non saremo autorizzati a ciò, fino a che non ci riescirà di stabilire tutta la serie di sviluppo come nel proteosoma ». Leggendo questo giudizio io mi domandava se è permesso veramente di abbattere tutto un edificio costruito da persone, che nella scienza non pretendono certamente di star alla pari con Koch, ma che tuttavia hanno mostrato di saper lavorare, abbattere questo edificio limitandosi per contestarne la solidità a tentativi che non rappresentano neppur la millesima parte delle esperienze da noi fatte.

Si badi bene che di fronte ai risultati negativi di Koch noi avevamo ottenuto la seguente serie di risultati positivi:

1°. Parecchi casi d' infezione malarica indiscutibilmente sviluppatisi per effetto della sola puntura degli *A. maculipennis.*

2°. Infezioni numerosissime degli Anofeli che avevano punto individui malarici. Che i germi di questa infezione preesistessero al succhiamento di sangue umano infetto, veniva escluso con tutta certezza dai seguenti fatti:

*a*) Non s' infettavano gli Anofeli che contemporaneamente pungevano l' uomo sano, benchè si tenessero nelle stesse condizioni.

*b*) S' infettavano anche gli Anofeli neonati che non avevano mai punto individui malarici. In questi neonati non si trovano mai i parassiti in discorso, nè mai si sviluppano se si nutrono con sangue di uomini sani.

*c*) Gli stadî, che si riscontravano nell' intestino, erano proporzionali per grado di sviluppo al giorno in cui l'Anofele aveva succhiato sangue malarico. Più questo giorno era lontano, più i parassiti erano avanzati nello sviluppo. Se l'Anofele si era nutrito varie volte di sangue malarico, alla distanza di 2 o 3 giorni, gli stadî erano parecchi e proporzionati.

*d*) Il parassita che si sviluppa, in principio è sicuramente alquanto differente a seconda che si tratti del parassita della terzana o della semiluna.

*e*) Nelle case degli individui malarici si trovarono molti Anofeli infetti (fuorchè nei mesi in cui la malaria non si fece sentire, o almeno si fece sentire assai raramente, con infezioni nuove). Gli Anofeli, invece, pigliati nelle stalle e nei pollai non vennero che molto eccezionalmente trovati infetti.

*f*) L' infezione degli Anofeli per quantità dei parassiti era proporzionale con quella del sangue umano con cui essi venivano nutriti.

*g*) Si osservarono casi di malaria in località e in epoche in cui soltanto gli Anofeli, fra tutte le zanzare, potevano venire incolpati.

Tutti questi fatti, che risultano dalle nostre pubblicazioni, per Koch non valgono nulla, perchè non abbiamo trovato quanto succede dei gameti nel lume dell' intestino medio durante le prime 40 ore circa dopo che gli Anofeli li ha succhiati. Certamente questa è una lacuna, ma una lacuna evidentemente dovuta alla difficoltà della tecnica di fronte alla poca abbondanza del materiale. La stessa lacuna c' era infatti anche nel lavoro di Ross per il Proteosoma degli uccelli e l' averla colmata rappresenta appunto tutto quanto Koch ha fatto per l' etiologia della malaria degli uccelli. Del

resto come ho detto più sopra, proprio mentre che Koch pubblicava la sua critica, io comunicavo all' Accademia dei Lincei di aver trovato anche i vermicoli la cui assenza aveva dato tanto da pensare al suddetto autore e di averli seguiti liberi nel lume dell' intestino fino alla loro entrata nell'epitelio. Posseggo anzi un preparato in cui questo momento è stato sorpreso.

Ma io ero sicuro dei risultati precedenti; si capisce perciò facilmente come nella mia nuova Nota non abbia dato alcuna importanza speciale al riempimento della lacuna, da noi per i primi riconosciuta.

In conclusione voler negare la derivazione dei parassiti da noi studiati nell'Anofele perchè mancava la conoscenza del primo stadio di sviluppo, come ha fatto Koch, mi sembrava e mi sembra tanto strano quanto il voler negare che il feto umano derivi dalla fecondazione dell' uovo collo spermatozoo perchè i primi stadî di sviluppo non sono stati osservati.

Quanto alle prove negative avute da Koch facendo pungere uomini malarici da Anofeli, non mi fanno alcuna meraviglia perchè molte volte mi è capitata la stessa cosa; ciò che ho attribuito ora agli Anofeli, ora alla condizione delle semilune. Si noti però, perchè non nasca equivoco, che del pari molte volte ho trovato delle persone infette di semilune, le quali per parecchi giorni di seguito infettavano il 90 % degli Anofeli. I suddetti casi negativi, del resto, sono ben noti anche per le altre malattie parassitarie.

Queste critiche erano già state scritte quando, otto giorni più tardi, comparve il secondo lavoro di Koch. In questo, Koch ammette *verosimilissimo* che la malaria umana si propaghi per mezzo degli *Anopheles maculipennis*, quegli stessi *A. maculipennis* che otto giorni prima non potevano, non dovevano essere le zanzare propagatrici della malaria umana.

Il lettore si aspetterebbe di trovare in questo secondo lavoro le ragioni del cambiamento radicale delle opinioni da parte di Koch.

Purtroppo invece egli, che ha fatto la parte di ipercritico pei nostri lavori, per sè stesso è molto indulgente. In tre mesi di lavoro egli è arrivato a trovare soltanto 7 Anofeli infetti in posti molto malarici. Questi 7 Anofeli tuttavia sono bastati a modificare totalmente l'opinione di Koch!

Potrei dire di più, ma per rispetto al grande batteriologo Koch, lascerò al lettore di mettere d'accordo le seguenti due asserzioni che si leggono nei suoi lavori. Nel primo asserisce di aver trovato gli sporozoiti (germi falciformi) dentro le ghiandole salivari degli *A. maculipennis* anche nella stagione fredda, mentre nel secondo asserisce di *non aver mai* trovato niente di simile dentro la suddetta sorta di zanzara nella stagione fredda ([a]).

([a]) *Nota aggiunta correggendo le bozze.* — Gosio ha cercato di togliere la stridente contradizione, in cui è caduto Koch, dicendo che il termine « stagione fredda » nei due differenti lavori, si riferisce a due periodi ben differenti. « Nel primo (Zeitschrift für Hygiene, 8 settembre) si parla di reperto positivo riscontrato nell'inverno 1898-1899 in der *kalten Jahreszeit*, nell'altro (Deutsche med. Woch, 15 settembre) si parla di reperto negativo riscontrato nella stagione fresca *(in der vorhergehenden kühlern Zeit)* che precedè quella calda (giugno, luglio ecc. 1899), in cui il reperto fu di nuovo positivo ». *Evidentemente questa interpretazione è insostenibile*: infatti in altra parte

In parecchi punti Koch ci segue senza citarci: così, per esempio, dimentica che noi per i primi abbiamo fissato l' importanza della temperatura per lo sviluppo dei parassiti malarici nel corpo dell'*Anopheles*; dimentica che io prima di lui ho dichiarato innocenti i flebotomi, ecc. ecc.

Nel mio opuscolo popolare notoriamente pubblicato il 1° settembre io definisco l' uomo depositario dei germi dell' infezione per la nuova stagione malarica e ne induco la possibilità di liberarne un paese, opportunamente curando i malarici ([a]).

Koch viene presso a poco alla stessa conclusione nel suo secondo lavoro pubblicato il 14 settembre. Non vedendosi però su quali fatti egli si sia fondato, viene il dubbio ch' egli apprezzi il nostro lavoro più di quanto egli vuol mostrare.

Il punto culminante nuovo, nel secondo lavoro di Koch, è la possibilità da lui ammessa che anche il *Culex pipiens* propaghi la malaria. In una Nota ai Lincei (20) uscita in ottobre e ripubblicata dal giornale « La nuova Etruria » il 22 ottobre, ho dimostrato, con molti argomenti che si troveranno nel seguito del presente lavoro, che quest' asserzione di Koch riguardo al *Culex pipiens* deve rifiutarsi.

Nella stessa Nota or citata dimostro che Koch non ha portato alcun contributo all'etiologia della malaria umana. I lati della questione, riguardanti gli osti specifici dei parassiti malarici dei varî animali e la localizzazione della malaria in certe zone, gli sono sfuggiti.

*
* *

Nel secondo semestre del 1899 Ross (1) si recava a Sierra Leone a capo di una spedizione inglese per lo studio della malaria. Seguendo il metodo da me inaugurato, egli raccolse le zanzare in ambienti abitati da malarici e potè così prontamente dimostrare che le due specie di *Anopheles* che vi si rinvenivano sono capaci di infettar l'uomo di malaria; quanto agli altri risultati della spedizione, di notevole si apprende soltanto la conferma di ciò che noi avevamo precedentemente pubblicato sulla quartana e di ciò che io avevo pubblicato sulla biologia dell'*Anopheles*.

I lavori italiani sono tuttavia citati quasi soltanto per dire che ciò che noi abbiam fatto non presentava serie difficoltà.

*
* *

Schaudinn (37) ha recentemente riunite le nuove ricerche, facendo risaltare che la generazione alternante dei parassiti malarici corrisponde a quella degli altri sporozoi. Egli si maraviglia che ciò non sia stato da nessuno accennato, nonostante che io abbia in parte usati i nomi da lui proposti. Orbene, nella Nota preliminare da

---

del suddetto lavoro pubblicato nella Deutsche Med. Woch, Koch dice: 1° che restano 8-9 mesi (da settembre o ottobre d'un anno al giugno dell'anno successivo) duranti i quali l'esistenza dei parassiti malarici è affidata soltanto all'uomo; 2° che gli Anofeli nella stagione fredda (*kühlern Jahreszeit)* pungono senza infettare di malaria. Evidentemente perciò Koch il 15 settembre rinnega i suoi reperti positivi durante la stagione fredda! Tanto è vero che Gosio per evitare la contraddizione riduce a sette gli otto-nove mesi in cui il parassita malarico è limitato all'uomo (intermittenza epidemica).

([a]) *Nota agg. come la prec.* — Gosio nel suddetto lavoro attribuisce questo concetto a Koch.

me pubblicata con Dionisi (nella quale per la prima volta il ciclo evolutivo dei parassiti malarici viene interpretato come generazione alternante) vi è un chiaro accenno che deve essere sfuggito a Schaudinn; precisamente si legge che « noi possiamo definire il ciclo evolutivo degli emosporidi con una formula la quale concorda mirabilmente cogli studî di recente fatti sugli altri sporozoi ». Più di questo non si poteva dire in una Nota preliminare.

***

Nel luglio del corrente anno comparve infine il volume « *Sporozoa* » par Alphonse Labbé nel *Tierreich* (48).

Purtroppo la letteratura degli emosporidi arriva in questo lavoro quasi soltanto al 31 dicembre 1897. Ciononostante la compilazione di Labbé deve essere qui accennata perchè io pure userò una nomenclatura dei parassiti malarici, fin dove è giusto, conforme alle proposte del suddetto autore.

Per i cambiamenti da introdursi a queste proposte, ho consultato anche la più grande autorità in argomento, R. Blanchard, e credo che i medici per evitare confusioni debbano fin d'ora seguire la nuova nomenclatura ([a]).

La riassumo nel seguente quadro:

1°. *Terzana*, detta anche poco propriamente *Terzana primaverile*, prodotta dal *Plasmodium vivax* (Grassi e Feletti 1890).

2°. *Quartana*, prodotta dal *Plasmodium malariae* (Grassi e Feletti 1890).

3°. *Bidua*, detta anche più o meno impropriamente *Terzana maligna*, *Estiva-autunnale*, *Tropica* ecc., prodotta dalla *Laverania malariae* (Laveran 1881).

Anche i parassiti malarici degli uccelli comprendono due generi con parecchie specie, cioè:

I. *Halteridium Danilewskyi* (sinonimo di *Laverania Danilewskyi*) (Grassi e Feletti 1890).

II. *Haemamoeba relicta* (sinonimo di *Haemoproteus relictus*) (Grassi e Feletti 1890).

III. *Haemamoeba subpraecox* (sinonimo di *Haemoproteus subpraecox*) (Grassi e Feletti 1890).

Restano incerte quelle forme che io e Feletti abbiamo denominate *Haemamoeba immaculata* nell' uomo e *H. subimmaculata* negli uccelli.

([a]) Ross ha proposto una nomenclatura differente: essa non si può accogliere, perchè non conforme alle leggi di priorità accettate da tutti i naturalisti.

Precisamente, egli distingue i parassiti malarici dell' uomo e degli uccelli in due generi: in uno, *Haemamoeba*, Grassi e Feletti, comprende tutti i parassiti malarici suddetti eccetto quello che io denomino *Plasmodium malariae* e che egli appella *Haemomenas praecox*. Così viene eliminato il gen. *Plasmodium* il che è contrario alle leggi della priorità.

La fusione dei generi, proposta da Ross, è infondata, sopratutto perchè la *Laverania Danilewskyi*, Grassi e Feletti, è molto lontana dagli altri parassiti malarici.

Quanto ai parassiti umani, la creazione del nuovo genere *Haemomenas* può essere autorizzata dalla circostanza che *Haemamoeba* e *Plasmodium* furono usati come sinonimi; senonchè, siccome

Secondo ogni verisimiglianza devono riunirsi in un genere nuovo (*Achromaticus* di Dionisi) insieme ad una terza forma scoperta da Dionisi e da lui denominata *Achromaticus vesperuginis.*

Non posso finire senza accennare che oggi sono confermati, come risulterà da questo lavoro, i due principali risultati positivi delle ricerche da me fatte con Feletti, e da noi riassunti nel 1890 come segue:

« 1°. Abbiamo dimostrato con tutta sicurezza che i parassiti malarici hanno un nucleo vescicolare, come quello di molte amebe. Questo nucleo piglia la parte dovuta nei fenomeni di riproduzione, ed è già evidente nelle cosidette spore, le quali non hanno membrana.

« Dopo questa dimostrazione nessuno può più dubitare della vera natura dei parassiti malarici, ed attribuirli a degenerazione dei globuli rossi.

« 2°. Abbiamo provato *ad evidentiam* che può ospitare nell' uomo un certo numero di specie di parassiti malarici, di vere specie, nel senso generalmente accettato dai sistematici, che, cioè, una forma non si tramuta in un'altra ».

*
* *

Riassumendo questo Capitolo, dirò che forse anche senza il mio intervento nella questione, qualche fortunato avrebbe potuto determinare come agenti propagatori gli *Anopheles.* Poteva ben accadere tuttavia che, essendo numerose le specie da sperimentare e parecchie le incognite del problema, come ho detto, passassero molti anni prima che si arrivasse alla conclusione; molto più che lavorando, come hanno fatto molti fin qui, in luoghi non malarici o mediocremente malarici, non si arrivava a formarsi un concetto esatto delle specie dominanti nei luoghi molto malarici, e d' altronde lavorando in luoghi molto malarici senza sapere da quali zanzare guardarsi si correva pericolo serio d' infettarsi. Ciò infatti disgraziatamente accadde in Sigur Ghat nel secondo semestre 1897 a Ross, il quale purtroppo non raccolse neppure le varie specie di zanzare che l'avevano punto.

Mentre correggo le bozze di stampa tengo sott' occhio quattro nuove pubblicazioni:

I. Celli, *La malaria secondo le nuove teorie* (marzo 1900).

In questo lavoro, che tratta molto estesamente della profilassi e dell' epidemiologia della malaria, trovo confermato in molti punti le notizie da me precedentemente

---

il genere *Laverania* fondato da me e da Feletti nel 1890, riferivasi, come oggi si sa, alla forma sessuale dell'*Haemamoeba praecox,* non veggo perchè si debba creare un nuovo genere *Haemomenas.* Propongo perciò di non accettarlo.

Ove questa mia proposta non venisse ammessa, i generi *Laverania* e *Haemamoeba* stabiliti anche per i parassiti malarici degli uccelli da me e da Feletti nel 1890, dovrebbero sempre conservarsi per ragioni di priorità.

A proposito della nomenclatura, Ross mi accusa di aver fatto molta confusione distinguendo in due specie il parassita della bidua: in realtà la mia colpa consiste nell'aver dato distinti nomi alle forme, sessuata e non sessuata, di una specie di parassiti malarici. Se Ross consulta i libri di zoologia, vedrà che la stessa sorte è toccata alla maggior parte delle specie similmente dimorfe

pubblicate sui costumi degli Anofeli: di alcune divergenze toccherò man mano che ne avrò l'occasione nel presente lavoro.

II. Gosio (43), *La malaria di Grosseto nel 1899* (marzo 1900).

Gosio, benchè meno recisamente, continua a ritenere sospetto il *Culex pipiens*; egli però non aggiunge alcun nuovo argomento a quelli di Koch, nè confuta alcuno di quelli da me opposti.

Seguendo Koch, spesso non tiene conto dei nostri lavori. Qua e là si notano delle inesattezze e delle contraddizioni, che verranno da me man mano rilevate.

Nuovissimo è il sospetto che le zanzare possano direttamente trasmettere i germi malarici da uomo a uomo senza che intervenga la generazione sessuata.

III. Ross (46), *Report of the Malaria Expedition* (marzo 1900).

In questo *Report* Ross rifà per *sommi capi* la storia della scoperta secondo il suo modo di vedere. Rilevo tra le altre, in modo speciale, l'asserzione pura e semplice che « egli nel 1897 ha coltivato uno dei parassiti malarici umani in due specie di *Anopheles* (*dappled-winged mosquitos*) ». Come ho dimostrato più sopra ([a]), Ross non ha mai parlato di *Anopheles* malariferi prima di me e *dappled-winged mosquito* non è affatto sinonimo di *Anopheles*, contrariamente a quanto egli lascia credere.

Sui fatti particolari avrò occasione di accennare nel seguito del mio lavoro. Fin d'ora, però, richiamo l'attenzione del lettore sulla tavola IV, pregandolo di metterla a confronto con la tavola I del lavoro da me pubblicato con Bignami e Bastianelli (7). Le figure 8, 9, 10 e 11 voglionsi paragonare colle nostre figure 7 (doppia nel nostro lavoro), 8 e 9. Le figure pubblicate nel resoconto della spedizione malarica inglese sembrano somiglianti alle nostre; faccio spiccare che queste somiglianze si ripetono anche nei difetti: 1° tanto nelle nostre figure 7, quanto nelle figure 8 e 9 di Ross la capsula è rappresentata in modo che pare tripla, ciò che in realtà non è esatto; 2° le figure 8, 9, 10 sono sproporzionatamente piccole rispetto agli stadî giovani tanto nelle nostre figure quanto in quelle della relazione inglese; 3° non essendo stato segnato se le figure nostre dei parassiti osservati a fresco erano copiate a tubo allungato o a tubo accorciato, non si poteva calcolare l'ingrandimento: per una strana coincidenza, Ross, sempre preciso nell'indicare gl'ingrandimenti, questa volta li ha totalmente dimenticati.

Per dimostrare poi come proceda Ross ne' suoi lavori, richiamo l'attenzione del lettore sul capitolo *Remarks*. Qui egli descrive delle larve di *filaria* trovate in un *Anopheles*, ed afferma impossibile il dubitare che non siano derivate dai soldati. Ora io faccio osservare che, come ho pubblicato fin dall'agosto (19), nei dintorni di Roma sono molto comuni nell'*Anopheles*, le stesse larve di *filaria* descritte da Ross. Mancando

([a]) Rileggendo l'articolo sopra citato di Ross (36), con la data 31 dicembre 1898, rilevo che a proposito de' suoi esperimenti del 97 egli parla di « *deux mosquitos d'une nouvelle espèce que j'avais obtenue de la transformation des larves* », senza dire affatto che si trattasse di *Anopheles*; e più avanti scrive: « *Une oeuvre considérable, capable d'occuper un ou même, plusieurs savants, reste à accomplir. Il faut découvrir les hôtes nouveaux des parasites humains dans tous les pays malariques* ». Dagli *Annales de l'Institut Pasteur*, 13$^{me}$ Année, N. 2, Février 1899, pag. 137 e 143.

Si noti il contrasto fra queste asserzioni di Ross e quelle contenute nel suo *Report* (1900).

a Roma la filaria nell'uomo, è evidente che la menzionata affermazione di Ross non ha serio fondamento ([a]).

Tutto il frutto della missione Ross in Africa si riassume:

1° in una *non sufficiente* conferma del fatto che tutti gli *Anopheles* propagano la malaria umana, fatto da me per primo proclamato per ragionamento d' induzione;

2° in studî bionomici sugli *Anopheles*; questi studî in parte confermano fatti già noti da tempo o da me pubblicati da poco, in parte sono inesatti o incompleti.

***

Queste bozze di stampa erano già corrette quando uscì una nuova Rivista di Nuttall, nella quale questo egregio igienista che ha tanto contribuito a diffondere esattamente le nuove conquiste nel campo della malaria, esprime il suo autorevolissimo giudizio nella controversia tra me e Ross.

Siccome io non posso accogliere che in parte questo giudizio, così ritengo opportuno di riferirlo qui con le parole stesse dell' autore:

« Da quanto ho precedentemente scritto il lettore ricorderà che Ross ha osservato in India a Secunderabad dei parassiti pigmentati incapsulati in alcuni *mosquitos* colle ali macchiate, allevati dalle larve. Egli ne trasse la conclusione che finalmente aveva trovato il vero oste per i parassiti dell' uomo.

« Siccome egli per i suoi obblighi professionali come medico militare e per lo scoppio della peste non era in condizioni di proseguire queste ricerche, si occupò dell' infezione del *Proteosoma* degli uccelli, che gli permise di seguire nel *Culex pipiens* l' intero ciclo di questi parassiti. Nei nominati insetti egli osservò gli stessi corpi pigmentati che aveva trovato nei *mosquitos* a Secunderabad e ne indusse che i primi, con tutta sicurezza, dovevano essere stadî di sviluppo dei parassiti estivo-autunnali. Le sue osservazioni a Secunderabad gli servirono anche come filo direttivo per le sue ricerche col *Proteosoma*. Ne deriva che difficilmente si può negare che Ross sia stato il primo a seguire lo sviluppo dei parassiti malarici umani nel corpo dell' insetto.

« L' intero sviluppo che decorre identico a quello del *Proteosoma* è stato osservato da Grassi, Bignami e Bastianelli. Il lavoro degli osservatori italiani era anche necessario per confermare e fondare i dati di Ross.

« Considerata nel senso strettamente scientifico, l' osservazione di Ross per se stessa non era sufficiente per portare una prova decisiva in tale questione. Essa richiedeva di essere estesa e perfezionata, come è appunto avvenuto per mezzo delle ricerche italiane. Che lo sviluppo dei parassiti malarici umani, come ora sembra, avvenga esclusivamente negli insetti appartenenti al genere *Anopheles* è un' osservazione di cui siamo debitori agli osservatori italiani. Che Ross in Secunderabad facesse le sue osservazioni su una sorta di *mosquito* colle ali macchiate, perciò appartenente verosimilmente, benchè non con assoluta sicurezza, al genere *Anopheles*, risulta adesso ancor

([a]) [La filaria, che si sviluppa nell'*Anopheles* a Roma, appartiene ad un mammifero domestico, al quale viene inoculata secondo ogni verosimiglianza dall' *Anopheles* stesso per mezzo delle punture. Gli sperimenti *necessari per confermare questa ipotesi*, basata sulla posizione assunta dalla filaria, giunta al massimo sviluppo nel corpo dell' *Anopheles*, sono in corso].

più sicuramente dopo le ricerche degli italiani. Credo di essermi così espresso imparzialmente ».

Chi ha letto la storia da me riferita forse si meraviglierà di questo giudizio di Nuttall come dimostrano le seguenti osservazioni:

1°. Ross nel pubblicare i risultati ottenuti a Secunderabad sui *mosquitos* colle ali macchiate (è del tutto erroneo il ritenere con Ross e Nuttall che ogni *mosquito* colle ali macchiate sia verosimilmente un *Anopheles*) non aveva affatto dichiarato di averli allevati dalle larve. Questa dichiarazione fu fatta, in vero, solo nel succitato articolo (*Annales de l'Institut Pasteur*), del 31 dicembre 1898 (36), dopo la mia obiezione intorno alla mancanza di questo dato nella relazione de' suoi esperimenti.

2°. Ross otteneva contemporaneamente quegli stessi corpi che riscontrava nei *mosquitos* colle ali macchiate anche in un *mosquito* grigio (*Culex pipiens*) e li riferiva del pari, senza la memona esitazione, ai parassiti malarici umani. Dopo più di un anno fu però costretto ad ammettere che molto probabilmente si era ingannato e che i corpi trovati nel *mosquito* grigio in discorso invece che ai parassiti dell' uomo dovevano appartenere al *Proteosoma* degli uccelli, nonostante che questo *mosquito* grigio fosse stato allevato dalla larva. come risulta dall'asserzione di Ross: ch'esso, cioè, doveva essere uscito dal periodo di ninfa da circa una settimana.

Se Ross si è ingannato in questo caso non si capisce perchè si debba escludere che si sia ingannato anche negli altri riguardanti i *mosquitos* colle ali macchiate, molto più che, probabilmente, i *Proteosoma* degli uccelli si propagano tanto coi *mosquitos* colle ali macchiate, quanto coi *mosquitos* colle ali non macchiate! Mi duole che Nuttall passi sotto silenzio l' osservazione erronea di Ross, non che i vani conati, fatti per confermare le sue esperienze del 97, alla fine del 98 e al principio del 99!

Altre osservazioni potrei fare a Nuttall, ma sono già state accennate poche pagine più avanti. Tolgo soltanto da un altro lavoro (45) di Nuttall queste parole: « Grassi affrontò l' argomento in una maniera differente di Ross ».

Questa maniera differente stata da me pensata è l' applicazione di un metodo che fin dal 1892 io ho proposto per lo studio del ciclo evolutivo dei parassiti ad oste intermedio, osservando che questo metodo, rende grandi servigi e si riassume nella *limitazione delle forme sospette per via di comparazioni.*

Io avrei desiderato che Nuttall ne avesse tenuto conto perchè io sono convinto che senza di esso la dottrina dei *mosquitos* sarebbe ancora una semplice teoria, *come la definiva Nuttall stesso finchè conosceva soltanto le ricerche di Ross!*

Una volta applicato il mio metodo, la strada era aperta e la meta raggiungibile anche senza le ricerche di Ross, mentre queste non avevano condotto Ross stesso, nè potevano guidare a sufficienza gli altri alla meta.

Chiunque poi studia attentamente i lavori di Ross, acquista la persuasione che egli abbandonò i parassiti dell'uomo per quelli degli uccelli, non per le ragioni dette da Nuttall, ma perchè coi parassiti dell' uomo non riusciva! A Calcutta dove studiò i *Proteosoma* Ross aveva a sua disposizione uomini malarici e *Anopheles!*

Giova infine far risaltare che io arrivai agli *Anopheles* malariferi indipendentemente da Ross, le cui ricerche sui parassiti malarici degli uccelli furono pubblicate quasi contemporaneamente alla mia prima Nota preliminare.

## CAPITOLO II.

## La malaria e gli animali succhiatori di sangue.

È noto che in Italia, come in altri paesi, si distinguono: luoghi in cui la malaria domina gravissima, altri dove essa è meno intensa ed altri infine dove non si riscontra mai o quasi mai. Si sa per esperienza che la riviera di Genova è indenne dal flagello e che nel centro di Roma non si prendono le febbri malariche, mentre invece alla periferia di Roma la malaria incomincia a manifestarsi, e alle paludi Pontine sono rari gli individui che non ne vengano colpiti. Solo eccezionalmente si hanno paesi ove la malaria si presenta per uno, o più anni, talora in casi isolati, talora in forma epidemica e poi scompare. In breve, la malaria è malattia localizzata tanto che si è potuto indicarne esattamente la distribuzione sulla carta geografica d' Italia. Le Società ferroviarie poi, per loro conto, spinte da urgenze amministrative, hanno segnato sulle carte delle strade ferrate le zone malariche, distinguendole in gravissime, gravi, leggere, e leggerissime. Benchè queste designazioni siano state fatte in un tempo in cui la malaria in Italia e sopra tutto lungo le strade ferrate infieriva molto più che ai nostri giorni, e nonostante che in qualche località i criterî personali si siano un po' troppo imposti, tuttavia possiamo dire che principalmente queste carte redatte per cura delle Società ferroviarie dànno una chiara idea della maniera singolare con cui si svolge il fenomeno malarico.

Ciò che colpisce sopratutto è il fatto di trovare stazioni ferroviarie, vicinissime tra loro, l' una gravissimamente malarica e l' altra sana. Questo fenomeno, noto da molto tempo, ha dato luogo a una serie di studî comparativi diretti a determinare quali siano le condizioni indispensabili per lo sviluppo della malaria. Così è che l' esperienza, illuminata specialmente dal forte ingegno di Tommasi-Crudeli, ha permesso di formulare una serie di conclusioni, le quali non possono venire infirmate da nessuna nuova scoperta.

Un tempo si credeva che non esistessero località malariche prive di paludi o di acque stagnanti. Contrariamente a questa credenza molto diffusa, Tommasi-Crudeli segnalò parecchi luoghi gravemente malarici i quali presentano solo in minima quantità acque palustri, o ne distano di parecchi chilometri.

Si è inoltre determinato che la malaria può infierire in località che presentano le più differenti condizioni del suolo.

« La produzione della malaria, scrive Tommasi-Crudeli, avviene in terreni di svariatissima composizione e situati in ogni specie di giaciture: in bassi fondi, ricchi di acqua e di sostanze organiche, come in terreni di collina e di montagna poveri di acqua e poverissimi di sostanze organiche; in terreni di origine vulcanica, e in

terreni costituiti di sabbie quarzose, come Mac Nally ed altri hanno osservato nelle Indie orientali » ([a]).

Sempre basandosi sui confronti si è arrivati a stabilire che per la malaria occorre una temperatura relativamente alta: se non vi è una temperatura al disopra di 18-20°, la produzione malarica non avviene, e di ciò fanno prova sia la distribuzione geografica della malaria, sia la coincidenza della stagione calda colla stagione malarica. Ciò non reca tuttavia come necessaria conseguenza che le annate più calde debbano essere più fortemente malariche.

Altro fenomeno messo in luce dai confronti opportuni è il seguente: la malaria non viene mai trasportata se non a breve distanza. « A misura che gli studî sulla storia naturale della malaria vanno estendendosi, l' idea che la malaria possa essere trasportata a grande distanza, in tali masse da potervi infettare atmosfere salubri, va dileguandosi ». Tommasi-Crudeli applica quest' affermazione a Roma e rileva che la brezza marina diurna, che rinfresca ed esilara i Romani, giunge in Roma dopo avere strisciato su tutti gli impaludamenti del littorale, e su tutti i numerosissimi focolai malarici della metà occidentale dell' Agro. Così la benefica terrestre brezza serale, che i Romani respirano impunemente, viene dalla direzione delle lontane paludi di Stracciacappe e Baccano, del lago de' Tartari e di Pantano.

In base a tutte queste osservazioni Tommasi-Crudeli aveva escogitato la teoria dei germi malarici, che si sprigionano nell' aria da suoli differenti.

Contro di essa, quand' io cominciai i miei studî, lottava la nuova teoria: che tra i *mosquitos* e la malaria vi fosse un rapporto causale.

La teoria di Tommasi-Crudeli era una *semplice induzione*, ma le osservazioni su cui si fondava erano ineccepibili. Perciò alla nuova teoria incombeva l' obbligo di spiegare queste osservazioni, che, riunendo assieme quanto ho detto, si riducevano a quattro, cioè: la localizzazione della malaria, la indipendenza della malaria dalla natura del terreno e fino ad un certo punto dalle acque palustri, la dipendenza invece dalla temperatura e infine la limitata diffusione per mezzo dei venti.

Questi, che ho esposti, sono i concetti, i quali mi spinsero a intraprendere la mia prima serie di ricerche riguardanti i rapporti tra le varie specie di *mosquitos* e la malaria; i risultati furono riassunti in parecchie mie pubblicazioni preliminari.

Questo studio venne da me molto esteso e continuato fino agli ultimi tempi; recentemente uscì anche una pubblicazione nuova di Ficalbi (6) nella quale l' argomento è svolto quasi sotto il medesimo punto di vista. La spedizione inglese a Sierra Leone si occupò pure dello stesso argomento. Quanto passo ad esporre venne perciò già confermato in parte da varî Autori.

Già fin dal 1890 io avevo notato che si possono trovare dei *mosquitos* — nome che comprende tutti gli insetti alati succhiatori di sangue — in grande quantità anche in luoghi non malarici. Ora posso aggiungere che nei luoghi malarici i *mosquitos* non mancano mai, benchè qualche volta siano scarsi.

([a]) Secondo Grellet (23), l' aggiunta di calce ai terreni avrebbe un' influenza antimalarica. Anzi egli attribuisce alla natura calcarea del suolo le condizioni di salubrità di alcuni luoghi paludosi; basta osservare la carta della distribuzione della malaria in Italia per convincersi che l' osservazione di Grellet non è ben fondata. Del resto ciò che egli scrive si legge già in Lanzi e Terrigi.

Tra le località dove i *mosquitos* sono abbondanti mentre la malaria manca del tutto o quasi, noto le seguenti: la parte centrale di Venezia, la riviera Ligure da Genova a Nizza, i Bagni di Montecatini, la parte centrale di Orbetello, una gran parte di Messina, una gran parte di Catania, molti villaggi al confine della provincia di Milano con quella di Como, per esempio Rovellasca, Bregnano, Lurago Marinone, ecc.

In certi anni alcune località vengono terribilmente invase dai *mosquitos* senza che vi si sviluppi malaria; ciò accadde, per esempio, a Milano in via Gesù nell'autunno 1898.

Non sono rare le località malariche in cui alle volte i *mosquitos* siano scarsissimi, mentre in altri momenti vi si possono riscontrare piuttosto numerosi.

Nell'anno 1899 potevano servire, come esempio classico, Magliana e alcuni caselli tra Magliana e San Paolo presso Roma.

Quivi, al dire degli impiegati ferroviarî, proprio nel colmo della stagione malarica non c'erano *mosquitos.* Recatomi sul luogo per verificare il fatto in ogni casello ne trovai qualcuno (erano *Anopheles*).

In altre due visite successive che feci, rispettivamente dopo otto e dopo quindici giorni, riscontrai che il numero dei *mosquitos* (tutti *Anopheles*) era notevolmente aumentato.

Molte persone mi indicarono luoghi malarici in cui dovevano mancare i *mosquitos;* bastò però in tutti i casi una semplice esplorazione del luogo per dimostrare quanta poca attendibilità avessero simili asserzioni quando anche provenivano da persone autorevoli e nella più perfetta buona fede. Parecchie erano le cause che potevano averle tratte in errore.

Vi sono individui i quali, non si sa per qual motivo, sono particolarmente rispettati dai *mosquitos*, specialmente se questi non abbondano. Tali individui facilmente asseriscono che non ci sono *mosquitos* anche là dove, in realtà, si trovino in certo numero.

Vi sono altri individui i quali da molti anni non sono stati in luoghi malarici: ora, essi ricordano la malaria che li ha tormentati per varî mesi, mentre hanno dimenticato l'episodio del tutto secondario, cioè, la nôia dei *mosquitos*, che contemporaneamente dovettero soffrire.

Altri individui dopo che furono per molti anni in luoghi dove i *mosquitos* infierivano terribilmente, vennero poi traslocati in luoghi dove sono scarsi. Essi, avvezzi ad essere molestati terribilmente, non prestano più attenzione a qualche puntura che di tanto in tanto possono ricevere nel nuovo soggiorno e perciò asseriscono che quivi mancano le zanzare.

Per la stessa ragione, gli individui che abitano nei luoghi dove i *mosquitos* di estate sono molto numerosi asseriscono che quivi i *mosquitos* d'inverno non si trovano. Per costoro dunque il dire che non ci sono *mosquitos* equivale al dire che ce ne sono pochi.

Riserbandoci di tornare sull'argomento in un capitolo successivo, posso però fin d'ora concludere che *mentre non c'è malaria senza mosquitos*, *possono esservi mosquitos senza malaria. Aggiungasi che non esiste costantemente una proporzione tra la quantità dei mosquitos e la gravità della malaria.*

Se veramente passa un rapporto tra la malaria e i *mosquitos*, vi devono essere ragioni che spieghino queste conclusioni, apparentemente contradittorie alla teoria dei *mosquitos*.

Due sono le possibilità. O i *mosquitos* pigliano dal suolo o dall' acqua il germe e lo inoculano all' uomo e perciò essi non producono malaria che nei luoghi malarici, ovvero nei luoghi malarici devono esistere peculiari sorta di *mosquitos*.

Sì l' una che l' altra ipotesi, prima che lo studio della malaria entrasse nella nuova fase, era possibile. Io, per argomento di analogia, fornito dalla febbre del Texas, propagata da una zecca, pensavo però che soltanto la seconda ipotesi fosse verosimile.

In ogni caso era interessante e poteva riuscire decisivo lo studio delle varie sorta di *mosquitos*. Questo studio venne perciò da me intrapreso.

***

Tenendo presente che, come ho detto, la temperatura ha una grande influenza sulla stagione malarica e che in complesso la temperatura bassa è sfavorevole alla malaria, trascurai quasi interamente i luoghi alti e feci le mie prime ricerche in pianura o nei luoghi poco elevati e notoriamente caldi nei mesi estivi.

Confrontando i risultati, ottenuti nelle più differenti parti d' Italia, ho potuto facilmente rilevare che *nei luoghi malarici vi sono dei mosquitos particolari che mancano nei luoghi non malarici. La loro quantità è in complesso in proporzione diretta col numero dei casi di malaria.*

*Non trovai, per quanto io abbia accuratamente cercato, alcun luogo di pianura in Italia dove prosperino i mosquitos proprî de' luoghi malarici e non si dia malaria.*

Prima di venire ai particolari, occorre precisare le specie. Grande è il numero degli animali che in Italia succhiano sangue all' uomo: il loro studio è però ancora incompleto anche dal punto di vista puramente zoologico. Essi appartengono alle seguenti famiglie e sottofamiglie:

*Gnathobdellidae* (sanguisughe in senso lato).
*Ixodinae* (zecche)
*Argasinae* (zecche)
*Muscinae* (mosche)
*Tabanidae* (tafani)
*Simulidae* (moscerini)
*Phlebotominae* (pappataci)
*Ceratopogonidae* (serrapiche)
*Culicidae* (zanzare)
*Pulicidae* (pulci)
*Pediculidae* (pidocchi)
*Acanthiadae* (cimici)

Delle specie appartenenti a queste famiglie e sottofamiglie un certo numero può supporsi *a priori* incapace di propagare la malaria.

Cito un esempio. Benchè noi sappiamo che esista un certo rapporto tra la malaria e le sanguisughe, le quali si sviluppano nelle acque palustri, tuttavia dobbiamo ritenere questi vermi incapaci di propagare la malaria, come ci insegna l'uso un tempo

larghissimo, di attaccarli all' uomo senza provocare mai alcun caso di febbri palustri. È certo d'altronde che vengono infettati di malaria anche moltissimi individui, ai quali non si sono mai applicate sanguisughe.

Le *Ixodinae* sono molto comuni nei luoghi malarici e mancano in complesso nei luoghi sani. Certo è però che un grandissimo numero di individui s' infettano di malaria senza essere mai stati punti da questi animali ([a]).

Le *Argasinae* non hanno che fare colla distribuzione della malaria e sono così poco diffuse, che non possono venir prese in considerazione.

Le *Muscinae* succhiatrici di sangue sono da noi relativamente scarse e non hanno una diffusione corrispondente a quella della malaria.

Le *Tabanidae* invece sembrano avere quasi la stessa distribuzione geografica della malaria; moltissimi individui però vanno soggetti alla malaria senza essere mai stati punti da esse.

Le *Simulidae* italiane vogliono essere ristudiate: io le ho trovate in luoghi malarici e in luoghi non malarici, nessuna però ne trovai che pungesse l' uomo.

Le *Phlebotominae* sono rappresentate da una sola specie (*Phlebotomus papatasii* Scop.) da me trovata nelle più differenti parti d'Italia (Venezia, Locate Triulzi, Grosseto, Orbetello, Maccarese, Roma, Napoli, Metaponto, Sibari, S. Eufemia-Diramazione ecc.). Essa si trova dunque tanto in luoghi malarici quanto in luoghi non malarici. La sua stagione coincide abbastanza bene coll'epoca della malaria, però essa scompare in generale molto prima che la stagione malarica sia finita. Nel 1898 in Lombardia non ne trovai più già ai primi di agosto; a Roma scompaiono al principio di ottobre; lo stesso presso a poco si verifica nell' Italia meridionale, dove alla metà di ottobre 1898 e 1899 non ne ho potuto più trovare alcun esemplare.

La famiglia delle *Ceratopogonidae* vuol essere ristudiata sopratutto in Italia; una specie ([b]) è comunissima nell' Italia media e meridionale, specialmente nei luoghi molto bassi. Essa tormenta orribilmente nella seconda metà di giugno e nel luglio; alla fine di luglio o ai primi d'agosto scompare totalmente. Il volgo dice che il solleone l' ammazza.

Essa punge preferibilmente al mattino, quando il sole è già levato, ma talvolta ci assale in qualunque ora della giornata ed anche di notte, se splende la luna. Se spira vento, non punge più. Vi sono località (quali Metaponto, Sibari, dintorni del Casello Ferroviario Km. 30 andando da Roma a Maccarese) dove in certe giornate gli operai devono smettere il lavoro, tanto numerose sono le orde di questi minimi insetti che li assalgono.

La specie in discorso compare qualche volta anche in luoghi non malarici (per esempio: Piazza Vittorio Emanuele a Roma). Essa è però essenzialmente legata alle

([a]) La specie incerta che un tempo ho denominato *Haemamoeba immaculata* ha un'indiscutibile rassomiglianza col *Pyrosoma* della febbre del *Texas*, propagato come è notorio dal *Rhipicephalus annulatus* Say. Io ho avuto parecchie volte molte larve di questa zecca ma non sono mai riuscito a farle attaccare all'uomo.

([b]) Si tratta secondo ogni verosimiglianza di una nuova specie della quale si occupa il sig. Noè. Egli propone di denominarla *Centrotypus irritans*.

zone malariche, ma, come risulta dai dati sopra riferiti, non coincide la sua stagione con quella malarica.

*Pulci, Pidocchi* e *Cimici* non possono venir presi in considerazione perchè notoriamente nei luoghi malarici non sono più abbondanti che altrove.

Passiamo ora a considerare i Culicidi, che sono per noi le forme più importanti. In Italia esistono per lo meno *ventitre* specie appartenenti a questa famiglia; esse si trovano estesamente descritte nella classica Memoria di Ficalbi del 1899 eccetto tre, due delle quali vennero recentemente descritte dal sig. Noè.

Una terza specie, da me scoperta, venne recentemente descritta in parte dal Ficalbi: poichè, come vedremo, essa è malarifera, ritengo opportuno di completarne la descrizione in un altro capitolo del presente lavoro.

Enumero le 23 specie:

1. *Anopheles pseudopictus.*
2. " *superpictus.*
3. " *claviger* (*vel maculipennis*).
4. " *bifurcatus.*
5. *Culex penicillaris.*
6. " *ornatus.*
7. " *cantans.*
8. " *malariae* (molto probabilmente sinonimo di *C. vexans*).
9. " *nemorosus.*
10. " *pulchritarsis.*
11. *Culex albopunctatus.*
12. " *annulatus.*
13. " *Ficalbii.*
14. " *glaphyropterus.*
15. " *spathipalpis.*
16. " *Richiardii.*
17. " *mimeticus.*
18. " *elegans.*
19. " *pipiens.*
20. " *modestus.*
21. " *impudicus.*
22. " *hortensis.*
23. " *pulchripalpis.*

Nè Ficalbi, nè io abbiamo trovato in Italia il genere *Aëdes*; noi abbiamo perciò registrato due soli generi di Culicidi: *Culex* e *Anopheles* (per la distinzione di questi generi vedi il capitolo sulla sistematica degli *Anopheles*).

Comincio a considerare le specie del genere *Culex*.

Il *Culex pipiens* è specie molto diffusa; non v'è cantuccio, in cui una volta o l'altra esso non trovi un po' d'acqua dolce dove moltiplicarsi.

Ficalbi ha notato che si sviluppa perfino nell' acqua benedetta delle chiese. In alcune parti d'Italia è molto abbondante e produce perciò gravi noie. Esso si estende a tutta l' Europa. Il *mosquito* grigio (*grey mosquito*) di Ross tanto comune nell'India è niente altro che il *Culex pipiens*, come mi dimostrano tutti i caratteri e per fino la notazione denticolo-ungueale [Vedi pag. 10, Nota ([a])].

Il *Culex pipiens* si trova comunissimo in località punto malariche, quali le seguenti: centro di Venezia ([a]), riviera Ligure, città di Pisa, centro di Orbetello,

([a]) Recentemente il dott. Carlo Paluello mi comunica che avendo iniziato osservazioni sulla malaria dell'Estuario Veneto, trovò gli *Anopheles claviger* abbastanza numerosi sui margini della Laguna Fusina; sempre però vi predominavano i *Culex pipiens*. Nella città di Venezia trovò sempre soltanto il *Culex pipiens*. Soggiunge che dentro la città, per quanto gli consta, non si son dati casi di malaria primitiva, da varî anni.

parte della città di Messina, di Catania, ecc. Nei luoghi non intensamente malarici accade di trovare frequentemente molti *Culex pipiens*; per esempio Terracina, nel cui ospedale sovrabbondano e molestano i poveri malati ([a]), città di Grosseto, parte periferica della città di Orbetello, ecc. Nei luoghi intensamente malarici (intendendo per intensa malaria il grande numero dei casi, indipendentemente dalla gravità delle forme malariche) spesse volte si può stare delle giornate intere senza trovare un *Culex pipiens*, per esempio: in Lombardia, a Locate Triulzi e a Villa Maggiore: nell' Italia media, alla tenuta Pescia Romana di Chiarone, a Tortreponti, a Ninfa. Anche nelle case di Maccarese i *Culex pipiens* sono in generale molto scarsi e in alcune non ne ho mai trovati; nella villetta del Principe, annessa al casamento di Maccarese, certe giornate non si arriva a pigliare neppure un *Culex pipiens*; nelle boscaglie, nelle praterie vicino alla pineta di Maccarese durante l'ottobre del 1898 le zanzare erano numerosissime ma non vi si trovava alcun *Culex pipiens*.

Vi sono infine località intensamente malariche in cui sovrabbondano i *Culex pipiens*; così agli scali ferroviarî di Sibari e Metaponto se ne trovano moltissimi, tantochè chi si contenta di raccogliere non molte zanzare senza scegliere, facilmente crede che non vi siano che *Culex pipiens*. Dalla stazione gravemente malarica di Berchidda in Sardegna, una prima volta mi vennero spediti soli *C. pipiens* in abbondanza ([b]).

Potrei moltiplicare gli esempî ma lo credo superfluo, da quanto ho detto risultando già evidente che non c'è alcun rapporto tra la distribuzione della malaria e quella del *Culex pipiens*. Ciò trova spiegazione nella circostanza che il *Culex pipiens* si sviluppa essenzialmente in piccole raccolte d' acqua temporanee, mentre non prospera là dove l' acqua è palustre. Ho osservato, per esempio, che esso non si trova mai nei fossati e negli stagni d' acqua chiara e ricchi di vegetazione, nelle sorgenti del pari ricche per solito di vegetazione e in simili luoghi, mentre basta che in vicinanza ad essi, nel fango, si formi una piccola raccolta d' acqua, per esempio, per l' impronta di un piede, perchè questa si riempia di larve di *Culex pipiens*.

Esse prosperano però nell' acqua palustre in cui sogliono bagnarsi le buffale, facendo morire molte piante acquatiche, le quali successivamente putrefanno.

Nei maceratoi di lino e di canape prosperano moltissimo, come anche nelle fogne mal tenute in cui qua e là si formano piccole raccolte d'acqua commista a feccia, e nelle latrine delle stazioni ferroviarie in cui si immette molta acqua. In complesso là dove c' è putrefazione ma non troppo intensa, si sviluppano in enorme numero i *Culex pipiens*. La città di Catania, dove un tempo non si sentiva quasi mai una zanzara, si popolò di immense schiere di *Culex pipiens* dopo l' introduzione dell' acqua potabile Casalotto; ciò si spiega colla circostanza che, essendosi spaccata la tubulatura, qua e là nelle cloache si formarono delle raccolte d' acqua.

I canali delle acque solfuree di Tivoli in molti punti dànno luogo a piccole pozzanghere dove si sviluppa un' enorme quantità di *Culex pipiens*; essi si sviluppano anche nei canaletti secondarî dove l' acqua ristagna.

([a]) Si può calcolare che nell'ospedale di Terracina su tre centinaia di *Culex* si trova appena un *Anopheles claviger*.

([b]) Successivamente mi pervennero anche da questa stazione numerosi *A. claviger*.

Riunendo tutto assieme, si può dire che i *Culex pipiens* sono le zanzare più delle altre in intimo rapporto coll' uomo: è l' uomo che ne favorisce molto lo sviluppo, producendo casualmente piccole raccolte d'acqua più o meno putrescente. Qualche volta riesce perciò facile liberarci dei *Culex pipiens*, tenendo vuoti i recipienti di acqua, chiudendo ermeticamente certe latrine, ecc.

I fatti fin qui esposti fanno arguire *a priori* che il *Culex pipiens* non deve aver nulla a che fare colla malaria.

Il *Culex spathipalpis* coabita di frequente col *Culex pipiens*. Si sviluppa nelle medesime acque: vi deve essere però probabilmente un grado di putrefazione nonostante il quale prospera ancora il *Culex pipiens*, mentre non si trova più il *Culex spathipalpis*.

Ficalbi ha notato che il *Culex spathipalpis* si sviluppa per lo più in acque molto sporche e sovente sporchissime e putrescenti.

A me risulta invece che si trova in acque poco sporche, sopratutto nelle acque che servono per irrigare gli orti.

Questa specie si trova in qualunque parte d' Italia (Ficalbi) ([a]), ma non è mai abbondante.

In conclusione, *Culex pipiens* e *spathipalpis* per il loro *habitat* si rassomigliano molto e si possono dire benissimo indipendenti dall'ambiente malarico. Spesse volte accade che un capo stazione, per esempio, mettendo ad orto un pezzo di terreno palustre ossia risanandolo, come si dice, involontariamente costituisce un focolaio delle nominate due specie, per i sopraesposti motivi.

Terzo tra questi *Culex* indipendenti dall'ambiente malarico vuolsi annoverare il *Culex elegans*, da me trovato soltanto alla stazione zoologica di Napoli in esemplari adulti. Risulta però dalle ricerche di Ficalbi che esso ha un *habitat* molto simile a quello del *Culex spathipalpis*.

Le tre specie di cui ho fin qui parlato, vengono giustamente da Ficalbi riferite all' *habitat foveale*, cioè di fosso o di pozzanghera; le loro larve, cioè, come scrive Ficalbi, vivono in acque comunque ristrette, avventizie, sporche, subputrescenti o anche putrescenti.

Gli altri *Culex* secondo Ficalbi sono in parte subpalustri, in parte palustri, ad eccezione del *Culex annulatus* che è anche un po' foveale.

A questo riguardo è d' uopo notare come Ficalbi distingua l' ambiente subpalustre da quello palustre.

Secondo quest' autore sono subpalustri quelle zanzare le cui larve hanno bisogno per vivere di acque bensì (per quanto maceranti qualche sostanza vegetale morta e per quanto presso che ferme) non putrescenti, e in complesso piuttosto chiare e con un po' di vegetazione viva, ma senza che realmente abbiano carattere di paludi o risaie, ecc., tutto limitandosi a piccole raccolte, come per esempio vasche di giardini, laghetti di boschetti anche signorili, e via dicendo.

Ficalbi chiama poi palustri « le zanzare le cui larve hanno bisogno per vivere di acque palustri e naturalmente non vivono che in esse. Il tipo di tale ambiente

([a]) Io però non l' ho trovata nell' Italia settentrionale: noto specialmente la sua mancanza in alcuni luoghi in cui i *C. pipiens* sovrabbondano.

ci è dato da acque ferme o quasi ferme, sì maceranti qualche sostanza vegetale morta, ma in complesso chiare e con vegetazione viva (*vegetazione palustre*, fatta di canne palustri, giunchi, ninfee, crescione, speciali alghe come le conferve, ecc; o *vegetazione di risaia*); queste acque possono ora essere in grandi estensioni, ora però anche in piccole e piccolissime, senza perdere la natura loro ». Conosco, aggiunge Ficalbi, qualche luogo in cui una raccolta d'acqua di pochi metri quadrati di superficie, ma a carattere palustre genuino, può allevare le larve delle zanzare palustri.

Orbene, un tempo anch' io credevo di poter stabilire una distinzione simile a questa di Ficalbi, e perciò scrissi che il *Culex hortensis* si trova comune in zone che se pur sono malariche lo sono molto debolmente, e talora si rinviene alla frontiera delle zone malariche. Ficalbi registra appunto il *Culex hortensis* tra le zanzare subpalustri.

Ma oggi, dopo più estese ricerche, sono molto esitante ad ammettere la distinzione tra zanzare palustri e subpalustri.

Riserbandomi di trattare degli *Anopheles* più avanti, continuo per ora a parlare dei *Culex*.

Devo premettere che io non ho trovato alcune specie di *Culex* registrate da Ficalbi, perciò, relativamente ad esse, mi devo riferire a quanto dice quest' autore.

Passo ad enumerarle.

1. *Culex ornatus*: stato trovato da Ficalbi in Toscana una sola annata e neppur da lui rivisto. Certamente si tratta di una specie trascurabile per le nostre ricerche.

2. *Culex cantans*: presso Mantova, Ficalbi ha catturato un esemplare che gli è parso di dover riferire a questa specie. Anch' essa per noi è trascurabile.

3. *Culex glaphyropterus*: anch' essa è specie trascurabile, infatti Ficalbi scrive: « La ho descritta in questo lavoro perchè fra certe zanzare di Dalmazia che potei vedere credei riconoscerla ».

4. *Culex pulchripalpis*: è specie accennata da Rondani per l' Italia; nessuno più l' ha riveduta; anch' essa è dunque specie per noi trascurabile.

5. *Culex impudicus*: questa specie fu trovata da Ficalbi in Sicilia e in Sardegna, manca però nel resto d' Italia.

Quest' ultima specie è dunque la sola di una certa importanza che sia sfuggita alle mie indagini.

Accenno ora ad altre specie relativamente molto rare e le cui larve sono sconosciute. Esse sono il *C. pulchritarsis* e il *C. Ficalbii.*

Il *C. pulchritarsis* fu da me trovato soltanto poche volte nei boschi e nelle macchie (Villetta del Principe a Maccarese, bosco annesso all'orto Botanico, boschi di Tortreponti). Anche Ficalbi ne ha potuto raccogliere solo pochi esemplari (bosco della Maremma Toscana, pineta di Viareggio).

Il *C. Ficalbii* (Noè) è stato trovato dai miei impiegati in un piccolo numero di esemplari a Maccarese (boschi) e a Porto, vicino a Roma nel 1899.

Certamente le due ultime specie, non possono avere importanza per la diffusione della malaria; e la loro somma rarità ci permette di trascurarle ([a]).

([a]) In quest'anno, invece, il *C. Ficalbi* fu trovato in numero considerevole, nei mesi di aprile e di maggio a Maccarese, a Porto ed a Tortreponti. Nessun individuo di questa specie ha mai presentato l'intestino contenente sangue.

Ficalbi non ha trovato un' altra bella specie scoperta da Noè (*Culex mimeticus*): essa convive come larva e ninfa con la forma tipica subpalustre di Ficalbi, cioè coll' *Anopheles bifurcatus*. Venne finora trovata soltanto a Grassano (Basilicata) e a Sezze, allo stato di larva e ninfa in pochissimi esemplari e compì lo sviluppo in laboratorio. Anche questa specie, per la sua somma rarità può non esser presa in considerazione speciale.

Abbiamo accennato fin qui a undici specie di *Culex*; restano a considerarsi ancora otto specie, cioè: *C. penicillaris*, *C. malariae*, *C. Richiardii*, *C. modestus*, *C. annulatus*, *C. nemorosus*, *C. albopunctatus*, *C. hortensis*.

Queste otto specie vengono ripartite da Ficalbi, come ho già accennato, in palustri e subpalustri.

Secondo Ficalbi sono palustri il *C. penicillaris*, il *C. malariae*, il *C. Richiardii* e il *C. modestus*; sono subpalustri il *C. annulatus*, il *C. nemorosus*, il *C. albopunctatus* e il *C. hortensis*. Egli mette anche il *C. impudicus* tra le forme subpalustri. Ad esse, per quanto sopra ho detto, si dovrebbe riferire anche il *C. mimeticus*.

Certamente io ho trovato nei boschi di Rovellasca, dove non ci sono paludi, i *Culex* da Ficalbi riferiti alle forme subpalustri, però ivi abbonda anche il *C. penicillaris* che egli cita per primo tra le forme palustri.

Aggiungasi che tutte le forme subpalustri di Ficalbi si trovano non meno abbondanti nei luoghi palustri, s' intende quando le condizioni sono opportune, così quando vi sono i boschi necessarî per le forme silvicole (*C. nemorosus*, e *C. albopunctatus*).

Osservo inoltre che, come spiegherò meglio più avanti, gli *Anopheles* non si prestano più dei *Culex* per la distinzione in subpalustre e palustre. Noto infine che la definizione data da Ficalbi di forme subpalustri e palustri è evidentemente un po' artificiosa.

Per tutte queste ragioni non posso accogliere che con riserva la distinzione proposta da Ficalbi.

Mi sembra di avvicinarmi meglio al vero sopprimendo la categoria delle forme subpalustri e ascrivendo tutti i *Culex* subpalustri di Ficalbi alla categoria delle forme palustri, coll' osservazione che i *Culex* da me denominati *palustri* (sinonimo di palustre e subpalustre di Ficalbi) si sviluppano molto in acque di durata effimera, perciò il loro sviluppo viene singolarmente favorito dalle irrigazioni temporanee dei prati, come si usa p. es. a Maccarese. Parrebbe perciò che la denominazione di *Culex* palustri non convenisse, senonchè frequentemente essi si rinvengono anche nelle acque palustri, specialmente se scarse di vegetazione.

Mi sono molto dilungato in queste distinzioni perchè esse permettono di formarsi una chiara idea della loro possibile importanza dal punto di vista malarico.

Mentre le forme schiettamente foveali, *a priori* debbonsi ritenere innocue, tutte le forme palustri sono sospette, e solo l'esperimento può decidere con sicurezza se siano o no temibili per la diffusione della malaria. Tuttavia non tutte sono sospette in ugual grado ed è appunto questo l' argomento che ora voglio toccare. Ripeto che trascuro le forme rare e quelle da me non trovate [quattro molto rare e una mancante sul continente italiano (pag. 40)].

I *Culex nemorosus* e *albopunctatus* sono frequenti nei boschi dei dintorni di Rovellasca, dove a memoria d' uomo non si è mai dato alcun caso di malaria: non sono più abbondanti nei luoghi gravemente malarici, come Maccarese, Tortreponti, Policoro, ecc. Questi confronti dànno ragione di ritenere che essi siano innocui. V'ha di più: il *Culex nemorosus* nei mesi estivi del 1899 diventò raro nell' Italia media. Ciò costituisce un' altra circostanza che allontana sempre più i sospetti dal *Culex nemorosus*. In ogni modo le circostanze qui esposte dimostrano che le specie in discorso non possono avere importanza seria nella diffusione della malaria.

I *Culex Richiardii* e *modestus* non si trovano che in luoghi malarici per quanto finora ho avuto occasione di osservare; però essi in molti luoghi malarici o mancano o sono molto scarsi (Locate Triulzi, Metaponto, Maccarese, Tortreponti, ecc.). Già da queste circostanze si può arguire, come io ho fatto già nel primo lavoro, che le due specie in discorso non possono ritenersi necessarie per la propagazione della malaria.

Ho già indicato la distribuzione del *C. hortensis* (pag. 46). Ho trovato il *C. annulatus* soltanto in luoghi malarici, ma quasi mai in abbondanza e non dovunque (manca p. es. a Locate Triulzi). Queste ultime due specie, come anche il *C. spathipalpis*, ci pungono di raro e perciò Ficalbi le ritenne fitofaghe; anch' io ne ho raccolte delle centinaia, che non vollero pungere l' uomo; forse pungono a preferenza altri animali. Tutto considerato non sembra che i *C. hortensis* e *annulatus* possano aver rapporto diretto colla malaria.

Restano da considerare due specie: cioè i *C. penicillaris* e *malariae*. Il trovarli in generale molto comuni nei luoghi malarici e la loro assenza nei luoghi non malarici ad essi circostanti (parlo sempre delle pianure italiane) farebbe molto sospettare ch' essi avessero colla malaria un intimo rapporto, se non vi fossero circostanze che fanno pensare diversamente.

Esse sono le seguenti:

1°. Il *Culex malariae* punge molto di giorno, mentre è notorio che di giorno la malaria si prende difficilmente.

2°. Dopo la prima metà di novembre nell'Agro Romano e nelle Paludi Pontine non si trovano più i *Culex* in discorso, mentre invece si dànno ancora casi primitivi di malaria.

3°. In Lombardia, in settembre, la malaria è già in gran diminuzione mentre i *Culex penicillaris* pungono ancora terribilmente.

4°. I *Culex penicillaris* non sono rari nei boschi di Rovellasca, nei quali non si è constatato nessun caso di malaria.

5°. Il *Culex malariae* manca in molti luoghi malarici (Locate Triulzi, Lentini, ecc.) (vedi anche pag. 20).

Tutte queste circostanze però non bastano per ricavarne una conclusione definitiva che, ripeto, può derivare soltanto da prove sperimentali.

* * *

Veniamo ora agli *Anopheles*. Ficalbi nella sua monografia del 1896 ne distingue per l' Italia quattro specie: *bifurcatus, claviger, pictus* e *nigripes*.

Le due prime specie vengono designate come frequenti, e estese in tutta l'Italia e nelle sue isole.

La terza specie era stata catturata da Ficalbi in Toscana nella foresta di Tombolo presso Pisa, in estate ed in soli esemplari femminei.

Riguardo alla quarta specie scrive Ficalbi: « Io mi sono sempre dimandato se invece che specie a sè, l'*Anopheles nigripes* in altro non consista che in individui piccoli e molto scuri di *Anopheles bifurcatus*, che in molte occasioni io ho avuto agio di osservare, sia del sesso maschile come del femminile. Mi sento molto inclinato per opinare in questo senso ».

Avendo io avuto maggiori mezzi a disposizione ho potuto completare questo studio degli *Anopheles* come si vedrà in un capitolo successivo.

Nella nuova edizione dell'opera di Ficalbi le mie proposte sono state accettate, perciò distinguo qui quattro specie di *Anopheles* non corrispondenti però che in parte alle quattro di Ficalbi (1896):

I. *Anopheles pseudopictus* Grassi (1899).
II. *Anopheles superpictus* Grassi (1899).
III. *Anopheles claviger* Fabr. (1805).
IV. *Anopheles bifurcatus* L. (1758).
Sin: *Anopheles villosus* (1827); *Anopheles plumbeus* (1828); *Anopheles nigripes* (1839).

Riguardo al genere di vita degli *Anopheles* possediamo importanti notizie di Meinert: « La larva d'Anofele abita le acque dormenti o a debole corrente con una ricca vegetazione, tanto nelle regioni boscose che nelle lande; tuttavia non ama l'ombra dei grandi boschi, ma cerca il sole e la luce; ciò che indica di già il suo colore verde d'erba ».

Ficalbi a proposito dell'*Anopheles bifurcatus* si limita a dire che la femmina spesso succhia sangue. Quanto all'*Anopheles claviger* scrive: « In tutta Italia, è molto numeroso ovunque, ma più che tutto nei luoghi di piano, ricchi di acque. Tra gli *Anopheles* italiani il più comune è il *claviger*. Le larve, che vivono alla superficie delle acque ferme, non vogliono acque così sporche, come spesso prediligono le specie del genere *Culex*; spesso anzi vivono in acque assai limpide. L'*Anopheles claviger* è specie per lo più fitofaga, che si nutre di succhi vegetali. Ma le femmine non sdegnano affatto aggredire l'uomo e i mammiferi e succhiare sangue. Il bestiame domestico può esserne infastidito nelle stalle. E all'uomo le femmine di questo *Anopheles* possono arrecare molestie, nei luoghi di piano ove abbondano, producendo punture e pomfi cutanei molto più cocenti e persistenti di quelli delle zanzare comuni. Fui punto spesse volte da femmine, mai da maschi ».

Questi dati preziosi per quanto incompleti di Meinert e di Ficalbi guidarono le mie ulteriori ricerche, che si possono leggere nelle pubblicazioni preliminari e sopra tutto nell'opuscolo popolare.

Nella nuova Memoria di Ficalbi, già più volte citata, i dati sono molto più estesi e più numerosi, avendo l'autore aggiunto alle mie, altre ricerche per proprio conto.

Il primo punto sul quale richiamo l'attenzione è che gli *Anopheles*, come probabilmente tutti gli altri *Culex*, non hanno l'abitudine di nutrirsi di vegetali. Le

femmine si nutrono di sangue: nei maschi non ho mai trovato nutrimento (Vedi Capitolo III).

Riguardo alla distribuzione geografica delle specie, due, *A. claviger* e *bifurcatus*, sono comuni a tutta l'Italia, comprese le isole. Una terza, *A. pseudopictus*, si trova in tutta Italia, ma nelle isole non è stata ancor trovata. La quarta, *A. superpictus*, è stata da me rinvenuta soltanto nella Basilicata e nelle Calabrie.

Riguardo alla frequenza, l'*Anopheles claviger* è la forma di gran lunga più comune delle altre; segue quindi il *bifurcatus*.

Vien dopo l'*Anopheles pseudopictus* che è stato da me trovato in tutta l'Italia settentrionale e media, di solito non raro, ma neppure frequente. Nell' Italia meridionale finora non è stato da me riscontrato, ma ve lo raccolse Ficalbi.

Vi sono località dove esso è abbondante, per esempio Chiarone sulla linea Roma-Grosseto. Ficalbi l' ha trovato molto comune nelle valli Cervesi e nel prossimo territorio del Savio. In particolare noto la sua presenza non frequente, tra Milano e Pavia e nelle Paludi Pontine, più frequente alla Cervelletta (vicino a Roma) e a Maccarese.

L'*Anopheles superpictus* è abbondante fino a predominare sull'*Anopheles claviger* in certe località dell' Italia meridionale (Castelnuovo Vallo sulla linea Battipaglia-S. Eufemia-Reggio Calabria). Non è raro nella valle dell' Ofanto e del Basento: è abbastanza comune a Policoro. In complesso si può dire che si trova in quasi tutta l' Italia meridionale.

Per valutare però convenientemente la frequenza degli Anofeli occorre far notare che l'*Anopheles claviger* pare più numeroso di quel che sia in realtà perchè si ferma facilmente nelle nostre case, nelle stalle, nei pollai e nelle capanne. Quivi benchè ne abbia meno accentuata l' abitudine, si può fermare anche l'*Anopheles superpictus*, ma questa forma si vede con maggiore difficoltà per le sue dimensioni più piccole.

Le altre due specie ben raramente si trovano nelle case, nelle capanne, nelle stalle ecc. Chi perciò non adotta metodi speciali di caccia (vedi più avanti) può credere che manchino queste specie in regioni, dove invece sono piuttosto frequenti.

Riguardo alle località dove gli *Anopheles* si sviluppano, i dati dei precedenti autori vogliono essere alquanto completati e meglio precisati.

Come tutti gli altri Culicidi, anche gli *Anopheles* si sviluppano soltanto nelle acque scoperte, cioè patenti. Essi sono in generale proprî delle acque chiare e ricche di vegetazione. Queste acque per lo più non sono direttamente piovane, ma derivanti dal sottosuolo e venute alla superficie. Si rinnovano in genere con lentezza, ma costantemente. La pioggia diretta può aumentarle; nei mesi estivi possono scomparire, ma riappariscono di solito alle prime pioggie.

Nel piano lombardo non irriguo, vi sono grandi vasche artificiali dalle pareti impermeabili, che si riempiono di acqua piovana opportunamente incanalata, e non asciugano talvolta anche per decenni. Quest'acqua si adopera per lavare, o per abbeverare il bestiame. Essa si mantiene più o meno chiara, ma quasi sprovvista di vegetazione. Orbene, in queste vasche non si sviluppano mai gli *Anopheles* ([a]).

([a]) Occorrono osservazioni speciali per i laghi lombardi.

Consideriamo particolarmente le singole specie cominciando dall'*A. claviger*. Esso si sviluppa in stagni o bacini d'acqua ferma, o dormiente, in canali o fiumetti in cui l'acqua scorra con lentezza (specialmente presso le rive dove abbonda la vegetazione) ([a]).

L'acqua può essere anche leggermente salmastra, come ho verificato a Metaponto, anche sulfurea, come ho verificato nelle Paludi Pontine.

L'acqua adatta per questa specie è ricca di vegetazione: sopratutto è favorevole al suo sviluppo il così detto panno o vellutello, formato di confervoidee intrecciate come in un feltro. Le lemne se sono in poca quantità favoriscono lo sviluppo dell'*A. claviger*; lo impediscono invece se ricoprono tutta la superficie dell'acqua, su cui la larva deve affacciarsi per respirare.

In primavera ho trovato le larve soltanto nei luoghi dove l'acqua era piuttosto profonda (stagni piuttosto ampî e laghi), di modo che occorreva per raccoglierle avanzarsi nell'acqua oltre il ginocchio. Queste acque di giorno si riscaldano poco, ma di notte si raffreddano anche poco, sicchè la loro temperatura è relativamente piuttosto costante e non molto bassa. Dalla fine di maggio in poi ho trovato le larve anche nell'acqua profonda soltanto pochi centimetri.

In conclusione l'*Anopheles claviger* è una specie eminentemente palustre. Basta però anche un bacino contenente soltanto qualche metro cubo di acqua palustre, quale si può trovare, per esempio, in un giardino signorile, perchè esso vi prosperi.

L'ambiente palustre (paludi, impaludamenti, paludelli) è la regola: si possono però dare delle eccezioni, come risulta dalle seguenti osservazioni fatte nel 1899.

A Maccarese nel mese di maggio trovai vicino a una casa in una botte abbandonata contenente acqua verdognola, oltre a molte larve di *C. pipiens* e *annulatus*, alcune grosse larve di *Anopheles claviger*. Il 3 luglio a Prima Porta (dintorni di Roma) ebbi un reperto simile in una piccola vasca contenente acqua piuttosto sporca. Il 6 settembre a Sermoneta in una piccola vasca, che di solito in quest'epoca è asciutta e per caso quest'anno conteneva ancora acqua sporca, ma non putrescente, trovai una larva di *A. claviger*. Larve della stessa specie furono rinvenute in una vasca del quartiere Ludovisi di Roma il 10 settembre, e in una botte a Sezze nel mese d'ottobre.

Questa abitazione, che dirò col Ficalbi *foveale*, delle larve di *A. claviger* già mi aveva colpito, essendo in contraddizione con quanto avevo osservato nella gran maggioranza dei casi. Fui però molto più sorpreso di trovare a Grosseto (in settembre) diffusissima questa abitazione foveale, cioè in acque per lo più chiare senza vegetazione verde, comunque abbandonate; così per esempio in vasi, botti e pile lasciati pieni di acqua di pozzo, o riempitisi direttamente d'acqua piovana, in pozzi non usati di recente e così via.

Talvolta le larve di Anofele convivevano con quelle di *Culex* e allora erano in piccola quantità; tal'altra, invece, erano sole o quasi e in discreta quantità, o anche abbondantissime.

([a]) L'acqua mossa alla superficie è impropria allo sviluppo degli Anofeli. Così per esempio quei bacini d'acqua (fontane), su cui cade uno zampillo, non contengono larve di Anofele.

Queste osservazioni fatte a Grosseto dimostrano, per così dire, la tendenza degli Anofeli ad adattarsi ad un ambiente nuovo.

Si potrebbe tentare la spiegazione di questi fatti singolari, ricordando che il padule fino a non molti anni fa era a poca distanza dalle porte di Grosseto. Tolto il padule, gli Anofeli dovettero adattarsi, come accade quando sono chiusi in una camera del laboratorio (vedi più sotto), a depositar le uova in acque insolite; molti saranno andati, o andranno tuttora distrutti, ma altri mediante questo adattamento avranno potuto sopravvivere.

Si potrebbe però dare del fenomeno anche un'altra spiegazione.

Ogni anno gli Anofeli in quantità migrerebbero, per nutrirsi, dai loro luoghi nativi fino alla città di Grosseto. Quivi sperduti depositerebbero le uova in acque insolite.

Con questa seconda spiegazione, si collega un'altra questione di grande interesse che io ho sempre tenuto presente.

Molti mi hanno assicurato che certi venti portano una gran quantità di zanzare.

Il Ficalbi nella sua nuova monografia, veramente preziosa, scrive che talvolta il vento rapisce le zanzare, e luoghi liberi da questi insetti possono esserne invasi per cagione del vento, che è una delle cause della diffusione delle zanzare.

Se si potesse veramente constatare che il vento trasporta gli Anofeli, oltre al fatto che si verifica a Grosseto, si spiegherebbero molti altri fenomeni, per esempio l'influenza attribuita da molti pratici ai venti nella diffusione della malaria; ma di tutto ciò più oltre (pag. 92, 93 ecc.).

L'*Anopheles bifurcatus* si sviluppa a preferenza nelle fontane, nelle sorgenti, nei rigagnoli e nei piccoli bacini d'acqua da esse alimentati: in generale nelle acque fresche, dove prospera molto il crescione.

Di primavera, se si trovano larve di *Anopheles* in acque che raggiungono pochi centimetri (15-30) di profondità, si è quasi sicuri che appartengono agli *A. bifurcatus* ([a]). Talvolta le larve di *A. bifurcatus* convivono con quelle di *A. claviger*.

Gli *Anopheles superpictus* e *pseudopictus* si sviluppano negli stessi ambienti preferiti dall'*Anopheles claviger*.

*Evidentemente risulta che tutti gli Anopheles provengono da quelle acque che furono ritenute per molti secoli fomite essenziale della malaria.*

Artificialmente in camere chiuse si può ottenere la deposizione delle uova da parte degli Anofeli, tanto in acqua limpida, quanto in acqua torbida e putrida, anche se manchi la vegetazione. È notevole il fatto che in quest'acqua torbida e putrida gli Anofeli talvolta si sviluppano bene (7).

Veniamo a considerare le stagioni in cui si sviluppano gli *Anopheles*.

Nell'anno 1899 ho trovato le uova di *Anopheles claviger* per la prima volta il 15 febbraio. Ho potuto però procurarmi una certa quantità di larve grosse e di ninfe di *Anopheles claviger* e *pseudopictus*, nelle Paludi Pontine, soltanto alla fine

([a]) L'*Anopheles bifurcatus* è meno comune dell'*A. claviger* probabilmente perchè i citati ambienti, in cui si sviluppa a preferenza, sono più limitati; forse alla sua minor frequenza contribuisce anche il bisogno ch'esso ha di ripararsi allo stato d'insetto perfetto nei boschi, nelle macchie, ecc.

di marzo. Più tardi diventarono sempre più frequenti dovunque fino alla stagione estiva, nella quale diminuirono, man mano che le acque prosciugarono; ne incontrai di nuovo una certa quantità in settembre e in ottobre.

Del resto, come è naturale, riguardo alla quantità delle larve nei varî mesi si dànno moltissime variazioni locali ([a]).

Verso la metà di novembre il mio espertissimo inserviente Mascetti nella Campagna Romana arrivò a procurarsi una sola larva di *Anopheles claviger* in due giornate di lavoro; vero è che le acque erano cresciute moltissimo, ma in certe località favorevolissime, se veramente ci fossero state, egli, avvezzo a queste ricerche, certamente le avrebbe rinvenute. Anche a Grosseto verso il 10 novembre non abbiamo più trovato larve di *Anopheles claviger*. Nelle Calabrie e nelle Paludi Pontine erano rare ai primi di novembre. Può darsi che in alcune località particolarmente calde, anche d'inverno si trovino larve di *Anopheles claviger*; ciò dev'essere forse una eccezione. Certo è tuttavia che anche d'inverno si trovano qualche volta *Anopheles claviger* pronti a depositare le uova.

Nel cuore dell'inverno io ho trovato soltanto larve di *Anopheles bifurcatus*. Anche Ficalbi ha fatto la stessa osservazione.

Nei mesi di gennaio e febbraio non si trovano mai *A. bifurcatus* e *pseudopictus* alati. Io ho fatto ricerche minuziosissime in proposito, anche nei tronchi degli alberi, dentro gli arboscelli folti; ho perfino fatto costruire una tenda che si collocava sopra gli arboscelli mentre sotto vi si accendevano dei zampironi; sempre invano!

Ai primi di marzo però a Chiarone, sotto le volticelle di un fontanile in aperta campagna, ho trovato per la prima volta due femmine di *Anopheles bifurcatus*: non potei trovarne altre fino verso la metà di marzo, nel qual tempo ne raccolsi alcune nelle case di Maccarese. Poco dopo ne rinvenni un numero abbastanza considerevole nelle stalle alle Tre Fontane, vicino a Roma. In principio di marzo ho trovato un maschio di *Anopheles bifurcatus* in un cespuglio in mezzo all'acqua; altri ne trovai nelle stalle suddette alle Tre Fontane, insieme con le femmine.

Queste osservazioni si riferiscono al 1899: nel gennaio del 1900 ho trovato alcune femmine di *Anopheles bifurcatus* ibernanti in una chiesa di Sezze. Certo è però che d'inverno sopravvivono pochi individui alati, mentre invece non sono rare le larve. Si può quindi asserire che nell'Italia Media e Meridionale l'*A. bifurcatus* sverna a preferenza allo stato di larva.

L'*Anopheles superpictus* nel cuore dell'inverno è stato da me trovato a Grassano (Basilicata) dentro le grotte in vicinanza al Basento; però sempre in piccolissimo numero.

([a]) Secondo Meinert le generazioni degli Anofeli sarebbero regolari e precisamente egli scrive: « La larve n'hiverne pas; mais, dans les années où la température est douce, on rencontre déjà des larves demi-adultes à partir de la mi-mars. En juillet ou un peu plus tard dans le courant de l'été, on trouve une seconde génération de larves adultes et enfin, en 1882, année dont le printemps avait été très précoce, j'ai, à la fin d'octobre, trouvé de petites larves qui certainement appartenaient à une troisième génération; mais il n'est pas à supposer que ces larves aient pu atteindre l'âge adulte, car leur existence étant liée ou à peu près liée à la surface de l'eau, la première gelée a dû les tuer. » (49). Evidentemente le osservazioni di Meinert sono imperfette.

Gli *Anopheles claviger* d' inverno si riparano molto volentieri nell' abitato, a preferenza nelle stalle, nei pollai, nelle camere da letto, sopratutto nei locali riscaldati. Nell' Italia media e meridionale si rifugiano anche nelle capanne e nelle grotte; sebbene in queste non siano mai abbondanti.

Gli *Anopheles pseudopictus*, *superpictus* e *bifurcatus* mi parvero in complesso più abbondanti nel mese di settembre che in altri mesi.

Nella campagna romana, in marzo, la maggior parte degli *Anopheles claviger* che hanno superato l' inverno, dopo essersi pasciuti e ripasciuti maturano ed escono fuori a depositare le uova, mentre ben pochi sono i neonati entrati nelle case. Ciò spiega perchè in queste, nel marzo, gli *Anopheles claviger* siano meno abbondanti che negli altri mesi. Nelle Paludi Pontine però, e precisamente a Tortreponti, il 28 e 29 marzo 1899 ho trovato di già molti *Anopheles claviger* maschi e femmine evidentemente neonati, sebbene le femmine fossero già piene di sangue.

Premettendo che si dànno moltissime differenze locali, in complesso si può dire che il numero degli *Anopheles claviger* dal marzo in poi va crescendo fino agli ultimi di agosto. In molti luoghi ho notato una diminuzione nel mese di settembre. Nell' Italia media e meridionale in parecchi luoghi ho notato un nuovo aumento degli *Anopheles claviger* nella seconda metà di settembre, ciò che probabilmente deve mettersi in rapporto colle pioggie. In complesso tornarono a diminuire in ottobre. Dall' ottobre ai primi di febbraio nell' Italia media e meridionale il loro numero restò quasi costante nelle case e negli altri loro ricoveri invernali. Invece nell' Italia settentrionale questa costanza si mantenne dal settembre al marzo. Nell' Italia media e meridionale nel febbraio cominciarono a uscir fuori in un certo numero per deporre le uova. La maggior parte, come ho già detto, uscì in marzo.

Questi fatti osservati nel 1899, si ripeterono press' a poco nel 1900: al 1° aprile a Maccarese, che è il gran focolare degli *Anopheles claviger*, ho potuto raccoglierne soltanto quattro. Essi si mostrarono scarsi dovunque fin oltre la metà di maggio.

*Evidentemente da quanto ho detto si deduce che in complesso gli Anopheles sono più numerosi in quei mesi in cui più infierisce la malaria.*

Dobbiamo ora dire qualche cosa più in particolare sull' abitazione delle varie specie di Anofeli ([a]).

Due specie di *Anopheles* (*bifurcatus*, *pseudopictus*) vivono quasi sempre in aperta campagna, l'A. *bifurcatus* a preferenza nei boschi, l'*A. pseudopictus* a preferenza, per quanto ho veduto, nei canneti; l' *A. superpictus* si riscontra a preferenza sotto i ponti, nelle case, capanne o stalle disabitate. Quest' ultima specie tende tuttavia, in generale, a imitare l'*A. claviger*; il quale s' introduce facilmente nelle nostre case non soltanto per ibernare, ma anche nei mesi estivi.

In questi mesi molti *A. claviger* (parlo sempre della pianura Italiana) per altro si fermano assai frequentemente anche all' aperto, anzi talvolta si trovano all'aperto e non nelle case, ciò che ho verificato in località dove sono poco frequenti. All'aperto stanno nascosti tra le erbe alte, sugli arboscelli, sugli alberi, ecc. In complesso prefe-

([a]) Questo punto è molto importante anche perchè gli Anofeli che vivono in aperta campagna subiscono dei salti di temperatura ben maggiori di quelli a cui vanno soggetti gli Anofeli che convivono coll' uomo, nelle stalle, ecc.

riscono i luoghi dove il vento si fa poco sentire, quindi è che si trovano più spesso sulle piante che stanno in luoghi bassi, addossate alle case, ecc.

Vi sono dei luoghi dove ogni anno abbondano gli *Anopheles* e infierisce la malaria: sono appunto quelli prossimi alle paludi, agli acquitrini, ecc., per esempio Maccarese, Porto, Ninfa, Tortreponti, ecc. Vi sono altri luoghi in cui la malaria non riprende ogni anno con eguale intensità: così nella valle del Basento a Grassano nel 1898 vi furono molti casi di malaria e molti Anofeli, nel 1899 invece pochissimi Anofeli e pochissima malaria. Ciò si spiega colla circostanza che l'acqua palustre vicino a Grassano è scarsa e soggetta a molte variazioni; a seconda delle annate perciò varia molto la produzione degli *Anopheles*.

Percorrendo le ferrovie italiane nella stagione malarica riesce facile persuadersi che là dove infierisce la malaria abbondano gli Anofeli e là dove non si fa molto sentire, essi sono scarsi. Potrei a questo riguardo citare una serie di fatti particolari che certamente s'impongono a qualunque osservatore imparziale. Il collega Blessich che mi ha accompagnato in molte escursioni, ha controllato una parte di questi fatti. Abbiamo, per esempio, percorso insieme la valle dell'Ofanto il 24 e il 25 luglio; orbene in quell'epoca la malaria si faceva molto sentire al casello 94.770 (nella regione Terremoto appartenente al paese Rapone), e quivi erano abbondanti gli *Anopheles claviger* e in un laghetto vicino pullulavano enormi quantità di larve della stessa specie, mentre nei caselli precedenti quello in discorso per chi viene da Avellino, gli *Anopheles* erano scarsissimi e nessuno in quest'anno aveva ancor preso la malaria. Allo scalo ferroviario di Rocchetta S. Venere, località ritenuta gravemente malarica, supponevamo che vi fossero moltissimi *Anopheles*: invece dopo molte ricerche trovammo soltanto tre *Anopheles claviger*. Dal capo stazione però sapemmo che al detto scalo ferroviario dove si trovano circa cento individui, quest'anno (1899) non s'era dato alcun caso di malaria e l'anno scorso s'erano verificati soltanto due casi.

A Battipaglia la malaria è leggerissima, e gli *Anopheles* sono scarsissimi: ad Albanella la malaria è grave e gli *Anopheles claviger* abbondanti, ecc.

Dalla società delle ferrovie Sarde ebbi una copiosissima raccolta di zanzare prese nelle varie stazioni della Sardegna. Anch'essa conferma la mia tesi.

Tuttavia in certe località dell'Italia meridionale la quantità degli *Anopheles claviger* sembra troppo scarsa in rapporto alla gravità della malaria; furono queste località che fin dal novembre dell'anno scorso richiamarono la mia attenzione sulle altre specie del genere *Anopheles*.

Cito in proposito la Calabria, specialmente S. Eufemia e un certo numero di stazioni precedenti e seguenti Sibari e dintorni, ecc. Se in queste località teniam conto, oltre che degli *Anopheles claviger*, anche delle altre specie, la proporzione tra la malaria e gli *Anopheles* quivi pure risulta evidente.

Debbo citare in particolar modo Castelnuovo Vallo, località dove la malaria infierisce mentre gli *Anopheles claviger* sembrano scarsi; quivi sono però molto abbondanti gli *Anopheles superpictus*, come ha dimostrato l'impiegato ferroviario Marcovecchio.

Accennerò infine a Sezze e Sermoneta, dove gli Anofeli abbondano più in ottobre e novembre che nei mesi estivi: similmente si comporta la malaria, cioè d'estate si fa poco sentire e infierisce d'autunno avanzato.

*Ne risulta che gli Anofeli abitano e quindi possono facilmente pungere in tutti quei posti dove notoriamente si prende la malaria.*

*Nelle pianure e sulle colline poco elevate e notoriamente calde d'estate, in Italia non si trova alcun luogo dove siano Anofeli e non regni endemica la malaria* ([a]). *Si può stabilire come regola assoluta che più in un luogo imperversa la malaria, maggiore è il numero degli Anofeli che vi si incontrano.*

***

Cercando ora di riunire i fatti precedentemente esposti sotto un punto di veduta generale, veniamo alle seguenti conclusioni:

I. *Nei luoghi malarici vi sono veramente degli animali speciali succhiatori di sangue che non si trovano nei luoghi non malarici. Ciò rende sempre più verosimile la teoria delle zanzare malarifere, distruggendo una delle più gravi obiezioni che si possano muovere contro di essa e si accorda mirabilmente colla localizzazione della malaria, di cui si è parlato nel principio del capitolo.*

II. *Tra questi animali, quelli che per la loro frequenza, per le stagioni in cui si trovano, per la loro abitazione sono più sospetti, sono senza dubbio gli Anopheles, che furono da me definiti nel settembre 1898 vere spie della malaria; però non si può escludere senza speciali sperimenti che altre specie possano essere malarifere.*

III. *La qualità del suolo non deve avere un'importanza diretta perchè l'acqua opportuna per la propagazione degli Anofeli e delle altre forme a priori sospette, si può trovare nei più differenti terreni. Ciò s'accorda benissimo con la conclusione di Tommasi-Crudeli che la malaria si sviluppa nei paesi aventi i più differenti terreni.*

IV. *Gli Anofeli si estendono dall'acqua dove si sono sviluppati, ai dintorni, in cerca di nutrimento. Considerando, in mezzo ad un'uniforme pianura, come centro un bacino d'acqua dove si siano sviluppati, si può determinare un raggio oltre il quale essi non vanno. Questo raggio specialmente in pianura brulla (senza boschi e senza abitazioni) nei mesi caldi, quando l'aria è carica d'umidità, nell'Italia media e meridionale può essere di parecchi chilometri nonostante che il bacino d'origine sia ristretto. Ciò si accorda benissimo con un'altra conclusione di Tommasi-Crudeli che ci può essere malaria in luoghi non paludosi.*

V. *Però in complesso gli Anofeli si allontanano poco dal loro luogo di origine. Ciò è in armonia con un'altra osservazione di Tommasi-Crudeli: che cioè la malaria si propaga soltanto a breve distanza.*

*Riassumendo, le stesse osservazioni indiscutibili, sulle quali Tommasi-Crudeli aveva fondata la sua teoria, danno appoggio anche alla nuova teoria, anzi con questa si spiegano molto meglio* ([b]).

([a]) Sola eccezione a me nota per l'*A. claviger* è un giardino (presso Saronno in Lombardia): dove vi è un paludello che ne produce pochissimi. Sembra tuttavia che un tempo si dessero anche qui dei casi di malaria. Conosco inoltre alcuni minimi focolai non malarici di *A. bifurcatus*.

([b]) *Aggiunta durante la revisione delle stampe.* — In una recentissima pubblicazione (50) Pagliani molto opportunamente dimostra come parecchi punti essenziali della nostra legislazione

Resta soltanto a spiegare la dipendenza della malaria dalla temperatura alta. Questo argomento viene discusso in altro Capitolo: si può peraltro già fin d'ora notare come *a priori* sia presumibile che il parassita malarico passando dall'uomo (a temperatura alta e costante) al *mosquito* (a temperatura simile a quella dell'ambiente, e perciò come quella variabile) muoia se la temperatura dell'ambiente, e quindi del *mosquito*, è al di sotto di un certo limite (18-20 C.).

*
* *

Tutto ciò che riferii per le regioni malariche d'Italia, vale probabilmente per tutte le plaghe malariche del mondo. Purtroppo le ricerche sugli *Anopheles* fuori d'Europa sono ancora molto incomplete; tuttavia troviamo registrato un *Anopheles minuta* Macquart del Sénégal. Ross recentemente ha trovato due specie di *Anopheles* nella Sierra Leone. Lo stesso Ross mi ha spedito dall'India un *Anopheles superpictus*. Sappiamo che gli *Anopheles* si trovano anche negli Stati Uniti, nell'America Meridionale, nella Nuova Guinea, ecc. Si può perciò fin d'ora ritenere con fondamento che in tutti i luoghi malarici si trovino specie del gen. *Anopheles*.

Ho parlato finora delle parti d'Italia dove il caldo si fa a lungo sentire nei mesi estivi, confrontando le regioni malariche colle regioni non malariche. Or debbo rilevare che soltanto nelle basse pianure e in luoghi di collina relativamente caldi, come per esempio a Sezze (alto 319 m.), a Sermoneta (alto 257 m.), ovvero, con altre parole, soltanto là dove la temperatura presentasi opportuna per lo sviluppo della malaria, gli Anofeli possono definirsi veri indici, vere spie della malaria. Invece nei luoghi un poco elevati in Italia (come in molti luoghi di pianura nell'Europa media e settentrionale), si possono trovare gli *Anopheles* anche relativamente molto abbondanti senza che vi sia malaria, o con una malaria relativamente poco intensa.

Fra queste località ne cito specialmente tre, nelle quali le ricerche furono fatte un po' più accuratamente.

Il giorno 26 luglio volli visitare le sorgenti vicine a quella che fornisce l'acqua del Serino a Napoli. Mi pareva che vi dovessero prosperare le larve di *Anopheles*

---

riguardanti la malaria siano pienamente conformi ai risultati della nostra scoperta sugli Anofeli. Cito due articoli.

« Salvo le disposizioni che siano stabilite nei regolamenti locali, saranno considerate nocive alla salute pubblica tutte quelle opere che mettono ostacolo al regolare deflusso delle acque del sottosuolo, al corso regolare di quelle superficiali, e cagionino ristagni di acqua nel terreno destinato a costruzione di abitazioni od impaludamento in qualunque altro terreno ».

« Sono vietate le camere cieche nei campi coltivati a riso; perchè questi devono avere una sufficiente pendenza, perchè il deflusso dell'acqua, per apposite e ben regolate bocche, sia costantemente libero ed attivo e devono essere sistemate per modo che, al momento della messa all'asciutto della risaia, si possano rapidamente prosciugare ».

Evidentemente questi due articoli erano stati suggeriti a Pagliani (che, com'è noto, è in realtà il benemerito autore della nostra legislazione sanitaria) dall'empirismo. Ora basta enunciarli per metterci in grado di spiegarne scientificamente l'efficacia. L'uno e l'altro suonano infatti *guerra a fondo* agli Anofeli, come risulta evidente dalle osservazioni svolte in questo capitolo.

*claviger* che trovai in verità molto numerose (non mancano neppure gli *A. bifurcatus*). Naturalmente anche gli *Anopheles* alati erano numerosi, però soltanto nelle stalle. Nelle case del villaggio S. Lucia di Serino (1500 ab. circa), vicinissimo a queste sorgenti, si trovava soltanto qualche raro *Anopheles claviger*, così pure nella stazione ferroviaria. In ogni modo il fatto mi sorprese perchè si dice che Serino non sia malarico. Assunsi perciò delle informazioni e seppi che a S. Lucia di Serino le febbri malariche non mancano, benchè siano relativamente rare.

Evidentemente esiste in questo caso una forte sproporzione tra la quantità degli *Anopheles* e la gravità della malaria. Questa sproporzione spicca molto di più, quando si pensa che a Serino ([a]) i casi di malaria importati sono numerosi.

Due spiegazioni erano possibili: o gli *Anopheles* di Serino costituiscono una razza immune da parassiti malarici, ovvero la temperatura di Serino è già relativamente troppo bassa per una copiosa moltiplicazione dei parassiti malarici.

Avendo io esclusa la prima spiegazione per via di opportuni sperimenti, restava soltanto la seconda. Benchè la stagione fosse avanzata feci intraprendere le misure termometriche opportune; grazie ai dottori Monti, Pescatore e al Capo stazione di Serino posso fornire dei dati molto precisi delle temperature dal 16 agosto al 17 settembre (vedi l'appendice a questo Capitolo).

Se si paragonano questi dati con quelli p. es. di Roma è facile persuadersi che a Serino la temperatura è notevolmente più bassa che a Roma, in rapporto colla circostanza che S. Lucia di Serino sta a 410 m. sul livello del mare, ed è fiancheggiato da alti monti.

A Serino per la prima volta ho poi fissato l'attenzione sopra un fatto molto interessante. Per effetto della temperatura bassa gli *Anopheles* si riparano in grandissima parte nelle stalle e perciò pungono con molta preferenza buoi, cavalli e maiali, soltanto raramente pungono anche l'uomo. Nel 1898 ad Alserio in Brianza mi era capitato di fare una osservazione simile: al tramonto di una giornata molto calda, la temperatura, come colà suol accadere, si abbassò molto; nei prati adiacenti al paese, nessuno fu punto dagli *Anopheles*, eccetto un giovane che si sedette sopra un mucchio di letame in forte fermentazione e perciò emanante molto caldo (questo giovane, in pochi minuti, ricevette un centinaio di punture; appena scesa la notte, esso pure non fu più molestato). Si noti che in Alserio quasi nessuno vien punto dagli *Anopheles* non ostante che l'abitato cominci allo stesso livello dei prati, coi quali confina, e si elevi lentamente soltanto di pochi metri. Nelle stalle adiacenti ai prati si trovano invece numerosi *Anopheles* per lo più pieni di sangue, che evidentemente perciò si comportano come a Serino.

Contemporaneamente alle mie osservazioni fatte a Serino, il sig. Noè ne compiva altre simili nei dintorni di Sala-Baganza e di Collecchio (prov. di Parma).

Egli notava che a Maiatico e a Lefèvre vi era un numero discreto di *Anopheles claviger*, tutti però nelle stalle, nessuno nelle case. Egli soggiornò a Lefèvre proprio nella stagione più opportuna e, per quanto cercasse, non arrivò mai a constatare che

([a]) Il comune di Serino consta, com'è noto, di parecchi villaggi.

un uomo fosse punto da un *Anopheles*. Egli stesso colà non fu mai punto dagli *Anopheles*, mentre qui a Roma ne veniva molto tormentato. Le suddette località, benchè poco alte sul livello del mare (250 m. circa), sono però relativamente molto fresche e molto ventilate. In altre località dei dintorni, un poco più elevate, si verificano gli stessi fatti: gli *Anopheles* si raccolgono tutti nelle stalle, soltanto il loro numero è molto minore. Più in basso invece, lungo le rive del Taro, gli *Anopheles* sono più abbondanti e pungono anche gli uomini. Ora, il caldo si fa ivi abbastanza sentire, specialmente alla riva sinistra del Taro (Noceto).

E la malaria in questi luoghi si uniforma evidentemente agli *Anopheles*. A Sala-Baganza, a Lefèvre e più in alto non c' è malaria; qualche raro caso si verifica alla riva destra del Taro; un certo numero di casi si hanno sulla riva sinistra.

---

Questo capitolo era già redatto quasi interamente quando Ross senza citare le mie Note preliminari dove i fatti e le conclusioni principali si trovano già esposti, arrivò a conclusioni identiche alle mie. « La malaria, scrive Ross, non è mai uniformemente distribuita. Piccole zone, macchie isolate, fattorie, baracche o villaggi, anche singole case, sono spesso conosciute come molto più malariche dei dintorni. Ciò fa arguire che la malaria non è dovuta alle comuni zanzare che si trovano quasi da per tutto, ma è causata da *mosquitos* che hanno una distribuzione simile a quella della malaria ». Queste parole di Ross portano la data del luglio 1899; nella mia Nota preliminare dell'ottobre 1898, tra gli altri fatti, ho citato il seguente: « Vicino a Saronno, in mezzo a una zona non malarica si trova un piccolo centro malarico (cascina Girola). In questa località trovasi localizzato, dirò addirittura confinato, l'*Anopheles claviger* che manca quindi nei dintorni. Un fatto simile si verifica vicino al laghetto di Ceriano ».

---

Nel *Report* della spedizione Ross, uscito durante la correzione delle bozze, leggesi (pag. 17) che « le larve degli *Anopheles* vivono in piccole raccolte d'acqua permanenti non soggette a movimenti (*small permanent pools not liable to scouring*) . . . Sembrerebbe che esse richiedessero certe condizioni, cioè sicurezza dal disseccamento, dal movimento e fors' anche da piccoli pesci ». Più oltre (pag. 19) aggiunge che « le larve si nutrono di filamenti di erbe d' acqua . . . Spesso sono state prese in pozzanghere in cui non si trova vegetazione verde ».

Io osservo che quest' ultimo fatto era stato già da me rilevato a Grosseto (20), e che le raccolte d'acqua in cui si sviluppano gli *Anopheles* possono essere ampissime e non sicure dal disseccamento, dal movimento nè sfornite di piccoli pesci.

# APPENDICE.

*Osservazioni termometriche fatte alla stazione di Serino dal 16 agosto al 17 settembre 1899.*

| Giorno | Ora | Gradi | Giorno | Ora | Gradi | Giorno | Ora | Gradi | Giorno | Ora | Gradi |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 16/8 | 21 | 19 | 20 | 16 | 20 | 24 | 16,30 | 19,3 | 28 | 16 | 22 |
| » | 23 | 18 | » | 18 | 20 | » | 18,50 | 18,3 | » | 18 | 19 |
| 17 | 1 | 17,5 | » | 20 | 19,5 | » | 21 | 14 | » | 20 | 15,5 |
| » | 3 | 16,4 | » | 22,30 | 18 | » | 23 | 13,5 | » | 22 | 12 |
| » | 5 | 16,7 | 21 | 0,45 | 17 | 25 | 1,30 | 11,5 | » | 24 | 11 |
| » | 7,30 | 21,5 | » | 2 | 16,3 | » | 3,30 | 11,5 | 29 | 2 | 11 |
| » | 9,30 | 24 | » | 4 | 15,5 | » | 5,30 | 12 | » | 4 | 11 |
| » | 11,30 | 27,5 | » | 6 | 16,3 | » | 7,10 | 17,5 | » | 6 | 16 |
| » | 11,55 | 23 | » | 8 | 17,5 | » | 9,30 | 20 | » | 8 | 19 |
| » | 12,30 | 27 | » | 10 | 24 | » | 11,30 | 21,30 | » | 10 | 21 |
| » | 14 | 27 | » | 12 | 23,5 | » | 13,30 | 22 | » | 12 | 24 |
| » | 15,30 | 27 | » | 14 | 23,5 | » | 15,30 | 22,5 | » | 14 | 23,5 |
| » | 17,30 | 24 | » | 16 | 18,5 | » | 17 | 20,5 | » | 16 | 23,5 |
| » | 19,30 | 22 | » | 18 | 15,5 | » | 19 | 17,5 | » | 18 | 20,5 |
| » | 21 | 21 | » | 20 | 15 | » | 21,30 | 14,3 | » | 20 | 14,5 |
| » | 24 | 20 | » | 22 | 15 | » | 23 | 12,5 | » | 22 | 16 |
| 18 | 2 | 20 | » | 24 | 15 | 26 | 1 | 12,5 | » | 24 | 14,5 |
| » | 4 | 20 | 22 | 2 | 15 | » | 3 | 11 | 30 | 2 | 11.5 |
| » | 6 | 18 | » | 4 | 15 | » | 5 | 10,4 | » | 4 | 11,5 |
| » | 8 | 22 | » | 6 | 15 | » | 7 | 16,5 | » | 6 | 15,5 |
| » | 10 | 24,5 | » | 8 | 16,3 | » | 9 | 20 | » | 8 | 18,5 |
| » | 12 | 27 | » | 10 | 17 | » | 11 | 23 | » | 10 | 20,5 |
| » | 14 | 27 | » | 12 | 18,3 | » | 13 | 25 | » | 12 | 23,5 |
| » | 16 | 25,3 | » | 14 | 19 | » | 15 | 24 | » | 14 | 23,5 |
| » | 18 | 24 | » | 16 | 19 | » | 18 | 23,5 | » | 16 | 25 |
| » | 20 | 20 | » | 18 | 17 | » | 20 | 18,5 | » | 18 | 23,5 |
| » | 22 | 19 | » | 20 | 15 | » | 22 | 18 | » | 20 | 20 |
| » | 24 | 17 | » | 22 | 14,5 | » | 24 | 16 | » | 22 | 18 |
| 19 | 2 | 17 | » | 24 | 14 | 27 | 2 | 14 | » | 24 | 16 |
| » | 4 | 17 | 23 | 2 | 13,3 | » | 3 | 14 | 31 | 2 | 16 |
| » | 6 | 16,5 | » | 4 | 13 | » | 5 | 13,5 | » | 4 | 16 |
| » | 8 | 22 | » | 6,30 | 14,3 | » | 7 | 17 | » | 6 | 18 |
| » | 10 | 26 | » | 8,30 | 15,5 | » | 9 | 20,5 | » | 8 | 22 |
| » | 12 | 25,5 | » | 10,45 | 15,3 | » | 12 | 23 | » | 10 | 23,5 |
| » | 14 | 27,5 | » | 12,35 | 15 | » | 14 | 24 | » | 12 | 25,5 |
| » | 16 | 27,5 | » | 14,30 | 17,3 | » | 16,30 | 24 | » | 14 | 26 |
| » | 18 | 22 | » | 16,45 | 17 | » | 18 | 28 | » | 16 | 25,5 |
| » | 20 | 22 | » | 19 | 17 | » | 20 | 18 | » | 18 | 21 |
| » | 22 | 21,5 | » | 21 | 12,5 | » | 22 | 16 | » | 20 | 19,5 |
| » | 24 | 20 | » | 23 | 13 | » | 24 | 16 | » | 22 | 19 |
| 20 | 2 | 18,5 | 24 | 1 | 14 | 28 | 2 | 13 | » | 24 | 17 |
| » | 4 | 17,3 | » | 3 | 14,5 | » | 4 | 10,5 | 1/9 | 2 | 15,5 |
| » | 6 | 17,5 | » | 6 | 11,5 | » | 6 | 11 | » | 4 | 15,5 |
| » | 8 | 20,5 | » | 7,30 | 15,5 | » | 8 | 16 | » | 6 | 16.5 |
| » | 10 | 25,5 | » | 9 | 18 | » | 10 | 19 | » | 8 | 19 |
| » | 12 | 28,5 | » | 11 | 20 | » | 12 | 24 | » | 10 | 25 |
| » | 14 | 25 | » | 14,15 | 20,5 | » | 14 | 24 | » | 12 | 26 |

| Giorno | Ora | Gradi | Giorno | Ora | Gradi | Giorno | Ora | Gradi | Giorno | Ora | Gradi |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 14 | 26,5 | 5 | 20 | 16 | 9 | 22,45 | 19,2 | 13 | 24 | 10,8 |
| » | 16 | 24 | » | 22 | 14 | » | 24 | 19 | 14 | 2 | 10,5 |
| » | 18 | 20 | » | 24 | 11,7 | 10 | 2 | 19 | » | 4 | 10,5 |
| » | 20 | 19 | 6 | 2 | 11,7 | » | 4 | 19 | » | 6 | 12 |
| » | 22 | 15 | » | 4 | 11,7 | » | 6 | 19,8 | » | 8 | 18,2 |
| » | 24 | 14,5 | » | 6 | 11 | » | 8 | 20,4 | » | 10 | 20,2 |
| 2 | 3,30 | 14,5 | » | 8 | 12,8 | » | 10 | 23 | » | 12 | 22,8 |
| » | 5,30 | 14,5 | » | 10 | 22,6 | » | 12 | 20,4 | » | 14 | 21,2 |
| » | 7,30 | 16 | » | 12 | 26,2 | » | 14 | 18 | » | 16 | 19,8 |
| » | 9,30 | 20,5 | » | 14 | 27,2 | » | 16 | 16 | » | 18 | 17 |
| » | 11,30 | 25,9 | » | 16 | 24,6 | » | 18 | 16,8 | » | 20 | 15,9 |
| » | 13,30 | 26 | » | 18 | 22,4 | » | 20 | 16 | » | 22 | 12,1 |
| » | 15,30 | 26,5 | » | 20 | 20,8 | » | 22 | 16 | » | 24 | 10,2 |
| » | 17,30 | 26 | » | 22 | 18 | » | 24 | 15,2 | 15 | 2 | 10,2 |
| » | 20 | 24 | » | 24 | 16 | 11 | 2 | 15,2 | » | 4 | 10,2 |
| » | 22 | 16 | » | 2,30 | 16 | » | 4 | 15,2 | » | 6 | 11 |
| » | 24 | 14,5 | 7 | 4 | 16 | » | 6 | 16,8 | » | 8 | 11,8 |
| 3 | 2 | 14,5 | » | 6 | 17,4 | » | 8 | 17,5 | » | 10 | 18,2 |
| » | 4 | 14,5 | » | 8 | 21,5 | » | 10 | 16 | » | 12 | 22 |
| » | 6 | 14 | » | 10 | 25,5 | » | 12 | 14 | » | 14 | 21,9 |
| » | 8 | 18 | » | 12 | 27,3 | » | 14 | 14,2 | » | 16 | 21,5 |
| » | 10 | 23,30 | » | 14 | 29 | » | 16 | 8,2 | » | 18 | 18,7 |
| » | 12 | 25,30 | » | 16 | 28,30 | » | 18 | 8 | » | 20 | 16,5 |
| » | 14 | 27 | » | 18 | 19 | » | 20 | 7,8 | » | 22 | 17 |
| » | 16,30 | 26 | » | 20 | 17,5 | » | 22 | 6 | » | 24 | 17,5 |
| » | 18 | 21 | » | 22 | 16,8 | » | 24 | 5,5 | 16 | 2 | 18 |
| » | 20,30 | 19 | » | 24 | 15 | 12 | 2 | 5,5 | » | 4 | 18 |
| » | 22 | 15 | 8 | 2 | 15 | » | 4 | 5,5 | » | 6 | 18,8 |
| » | 24 | 15 | » | 4 | 15 | » | 6 | 9,2 | » | 8 | 20,3 |
| 4 | 2 | 15 | » | 6 | 15 | » | 8 | 9,8 | » | 10 | 20,8 |
| » | 4 | 15 | » | 8 | 19 | » | 10 | 10,4 | » | 12 | 22,2 |
| » | 6 | 16 | » | 10 | 24 | » | 12 | 17,2 | » | 14 | 22,5 |
| » | 8 | 18,8 | » | 12 | 26,2 | » | 14 | 17,5 | » | 16 | 20,5 |
| » | 10 | 19,8 | » | 14 | 26,8 | » | 16 | 17 | » | 18 | 19,8 |
| » | 12 | 28 | » | 16 | 27,2 | » | 18 | 15 | » | 20 | 19,8 |
| » | 14 | 27 | » | 18 | 24,8 | » | 20 | 14,8 | » | 22 | 18 |
| » | 16 | 26 | » | 20 | 20,3 | » | 22 | 14,2 | » | 24 | 18 |
| » | 18 | 25 | » | 22 | 20 | » | 24 | 14 | 17 | 2 | 18 |
| » | 20 | 20 | » | 24 | 15 | 13 | 2 | 12,8 | » | 4 | 17 |
| » | 22 | 17 | 9 | 2 | 15 | » | 4 | 10,2 | » | 6 | 14,9 |
| » | 24 | 16,8 | » | 4 | 15 | » | 6 | 10,8 | » | 8 | 14,6 |
| 5 | 2 | 16,8 | » | 6 | 16,4 | » | 8 | 11,5 | » | 10 | 15,8 |
| » | 4 | 16,8 | » | 8 | 20,2 | » | 10 | 16,4 | » | 12 | 16,8 |
| » | 6 | 16 | » | 10 | 23,8 | » | 12 | 18,5 | » | 14 | 17 |
| » | 8 | 19 | » | 12 | 26,2 | » | 14 | 18,2 | » | 16 | 17,8 |
| » | 10 | 22,2 | » | 14 | 26 | » | 16 | 18 | » | 18 | 17 |
| » | 12 | 24,8 | » | 16 | 24,8 | » | 18 | 16,5 | » | 20 | 15,6 |
| » | 14 | 27,7 | » | 18 | 22,2 | » | 20 | 16,5 | » | 22 | 15 |
| » | 16 | 24,6 | » | 20,10 | 20,1 | » | 22 | 14,8 | » | 24 | 14,8 |
| » | 18 | 20 | | | | | | | | | |

*NB.* — Questi sono i dati del Capo Stazione nel locale della Stazione; con essi concordano sufficientemenie quelli del D.r Pescatore e del D.r Monti, raccolti in località poco distanti dalla Stazione.

CAPITOLO III.

# Metodi di ricerche.

## 1. Cattura delle zanzare.

Espongo altrove (Capitolo II) dove si debbano cercare le varie specie di zanzare; qui perciò mi limito quasi soltanto ad alcuni precetti sul modo di catturarle.

Serve per questo scopo una provetta comune, detta anche tubo d'assaggio, di vetro: è bene che la provetta sia lunga soltanto da 10-20 cm. e che il diametro sia di 30 mm. o poco meno (20 mm. circa se il raccoglitore è un ragazzo). Se il diametro del tubo supera i 30 mm., il pollice non ne chiude bene l'apertura. Il vetro deve essere preferibilmente più robusto di quello usato comunemente per le provette per coltura di microbi.

Le zanzare ferme si coprono con la provetta, chiudendo subito l'apertura appunto col pollice. Con un po' di pratica si arriva a pigliarne 3, 4 e perfino 10 in una provetta, quando le zanzare sono ferme sulle pareti, sui soffitti, sugli animali domestici, sull'uomo ecc. Ciò riesce un po' più difficile se poggiano sulle ragnatele, posto prediletto degli *Anopheles claviger* e anche degli *Anopheles superpictus*. Più difficilmente si arriva a pigliarne parecchie, se poggiano sopra le foglie.

Se le zanzare si devono lasciare per qualche tempo nella provetta, occorre chiuderla con un po' di bambagia che si deve approfondare oltre la bocca, affinchè non accada che venga facilmente strappata fuori. Dalle provette le zanzare si fanno passare in un vaso di vetro, a bocca larga e coperta di garza. Nel centro di questa garza è praticato un foro, che si chiude con un po' di bambagia. Sarà bene collocare dentro il vaso alcuni fuscellini, possibilmente strappati da una scopa ordinaria, che non sia stata ancora adoperata; essi servono per appoggio alle zanzare. Un tempo invece dei fuscellini di scopa usavo erbe, sopratutto graminacee ancora verdi, ovvero ramoscelli di piante a foglioline molto piccole; ho osservato però che dopo parecchi giorni, d'estate, facilmente andavano incontro ad un processo di decomposizione e facevano morire le zanzare. Specialmente d'estate, ovvero se la temperatura a cui si tengono le zanzare è superiore ai 20°, occorre mettere sul fondo del vaso un batuffolo di bambagia impregnata d'acqua. Se si vogliono tener vive le zanzare, occorre metterne poche in ogni recipiente. I recipienti, che di solito adoperiamo, sono vasetti di vetro a bocca larga, dell'altezza di 12 cm. e del diametro di 6 o 7 cm. Si possono adoperare i vasetti smerigliati; invece del tappo si mette garza o tela col foro nel mezzo.

Per togliere le zanzare dai vasi di vetro, si usa una provetta piegata ad angolo retto, o quasi, verso la sua metà.

Nei vasi preparati come sopra si è detto, gli Anofeli vivono bene per il tempo che corre fra un pasto e l'altro, 2 giorni circa a 27°-30° C. Nei *Culex* la digestione è più lenta, e alla or detta temperatura, quasi sempre muoiono tutti, prima d'aver compiuta la digestione, forse per l'aria viziata, se non si ha cura di cambiare il vaso al secondo giorno.

Per catturare le zanzare, Ficalbi ha raccomandato una bottiglia a nassa nella cui bocca larga è adattato un turacciolo forato, nel foro del turacciolo un imbutino di vetro. Qualche volta noi abbiamo adoperato una storta di vetro segata nel mezzo della parte rigonfia; in corrispondenza alla parte segata sta applicato un astuccio di latta fatto in modo da potersi aprire e chiudere con facilità. In generale però il metodo esposto per primo è più semplice e più comodo, specialmente perchè la bottiglia e la storta di vetro facilmente si rompono.

Se non importa che le zanzare siano vive e ci basta di aver dei campioni per poter determinare a che specie appartengano (s'intende in Italia, dove le specie sono ben note), si possono prendere anche con un fazzoletto piegato che si pone rapidamente sulla zanzara ferma: si schiaccia leggermente girando un po' il fazzoletto e così, di solito, troviamo attaccata al fazzoletto la zanzara, in discrete condizioni. Applicando opportunamente il fazzoletto a una canna possiamo raccogliere le zanzare da un luogo alto, p. es. da un soffitto.

Se le zanzare sono molto numerose potremo anche adoperare un retino, e poi colla solita provetta catturarle dentro il retino stesso. Il retino, però, ne guasta molte, ed io sconsiglio di usarlo quando si voglian tener vive.

Se si vogliono conservar le zanzare morte per ulteriore esame, si potrà metterle in scatolette di cartone sul cui fondo si posano delle squamette di naftalina; meglio si terranno in provette di vetro, dove di regola si trovano già morte dopo 24 ore. Si possono anche preparare a secco sopra un portoggetto i pezzi principali del corpo della zanzara; si ricoprono con un coproggetti, che si suggella.

Per prendere in vita libera le larve e le ninfe di *Culex* serve bene un retino o anche, come ha proposto Ficalbi, una specie di colabrodo con fondo di tela metallica fitta; per prendere le larve e le ninfe di *Anofeli*, che come io ho dimostrato, vivono isolate, ci serviamo a preferenza di un tubo di vetro alto circa 8 cm. e del diametro di 3 $^1/_2$ o 4 cm.

Si possono così raccogliere le larve e le ninfe e farle sviluppare ulteriormente. Si possono anche liberare in una camera delle zanzare colle uova mature per seguire tutto intero il ciclo evolutivo. In questi casi occorre aver nelle camere dei recipienti con acqua, degli acquari ecc.

È facilissimo di allevare le larve di *Culex pipiens, annulatus, spathipalpis, penicillaris, vexans* ecc.; ciò riesce invece difficilmente per quelle degli *Anopheles*. In qualche caso peraltro, con un po' d'acqua dentro la quale si era messo soltanto un po' di ghiaia e un pochino di terra (11), si sono allevati benissimo gli *Anopheles claviger*, dalle uova sino all'insetto perfetto; qualche volta ciò è riuscito anche con acqua di pioggia stata a lungo in un vaso. Ma la maggior parte delle volte l'allevamento in questi modi non riesce molto bene. Io ho ottenuto buoni risultati adoperando acquari, sul cui fondo collocavo dei pezzi di fango indurito e poi uno strato

alto di acqua nel quale a preferenza immergevo del vellutello (confervoidee); così gli *Anopheles* non di rado si sviluppavano; sebbene ne morissero sempre molti.

In complesso ho osservato che in un acquario preparato di recente le larve vivono meglio che in un acquario nel quale gli Anofeli siano già stati allevati altre volte.

Poca lemna negli acquari sarebbe favorevole agli Anofeli; se non che facilmente diventa abbondante e quindi sfavorevole.

A questo proposito occorrerebbe osservare più precisamente che cosa mangino le larve: io ho trovato nel loro intestino protozoi, alghe unicellulari, e detriti organici. Forse regolando il nutrimento, l'allevamento riuscirebbe più facile.

Certo è che in un acquario si arriva ad allevar meglio le larve se sono in piccol numero. Parecchie osservazioni dimostrano che l'*A. bifurcatus* vive negli acquari, anche sprovvisti di vegetazione, più facilmente dell'*A. claviger*; gli altri *Anopheles* si comportano come quest'ultimo.

L'*Anopheles claviger*, come ho già detto nel Capitolo precedente, è specie domestica: convive coll'uomo e cogli animali domestici. Si cerca perciò nelle case, nelle stalle, nei pollai ecc., tenendo presente che ama molto il caldo.

Di primavera le larve degli *A. claviger* si trovano ai margini degli stagni un po' grandi e piuttosto profondi; d'estate invece sono comunissime anche dove l'acqua è bassa.

Devo ancora accennare in particolare alla raccolta degli *Anopheles bifurcatus*, *pseudopictus*, *superpictus*. Gli alati di queste specie si trovano difficilmente; per lo più occorre prenderli al momento in cui vengono a pungerci.

Trovar le larve di *Anopheles bifurcatus* è invece facile, perchè vivono a gran preferenza nelle acque sorgive ricche di crescione. Di primavera, le larve che si trovano in acque basse (rigagnoli, piccole sorgenti ecc.), sono di *A. bifurcatus*.

Le larve di *A. pseudopictus* e *superpictus* si devono cercare nelle stesse località in cui si trovano gl'insetti perfetti; e sogliono convivere colle larve di *A. claviger*.

Cercando in capanne, o tra la paglia o nel fieno vicino a luoghi donde nascono gli *A. claviger*, è facile incontrarne molti neonati. Essi si riconoscono, come le api neonate, perchè hanno ancora il saio intatto. Specialmente all'apice dell'ala le squamette marginali di color giallognolo lionato cadono facilmente; perciò negli individui neonati, ad occhio nudo, l'apice dell'ala si mostra contornato di giallognolo lionato, ciò che spesso non si vede o si vede imperfettamente negli individui vecchi.

Nelle camere del laboratorio per quante cure si usassero, cercando di riprodurre l'ambiente naturale (piante, canne ecc.), non arrivammo mai a tener in vita gli Anofeli oltre un mese; di solito morirono molto più presto.

## 2. Modo di sperimentare.

Gli *Anopheles* presentano a preferenza dei *Culex*, un grandissimo vantaggio: in quanto che, se sono digiuni, pungono applicandoli semplicemente alla pelle con una provetta ([a]). Ciò si verifica per tutte le specie del genere *Anopheles*. Si incontrano

([a]) Questo modo d'esperimentare è stato da noi reso di pubblica ragione molto prima che uscisse nel *Report* di Ross.

tuttavia certi invididui che non s'adattano a nutrirsi in questo modo; talora essi si rassegnano a morir di fame, piuttosto che pungere chiusi in provetta. Raramente pungono prima di aver digerito tutto il sangue che hanno succhiato: qualche volta succhiano tanto da non potersi più allontanare dalla loro vittima; qualche altra volta, dopo che si sono rimpinzati continuano a succhiare, evacuando dall'ano sangue pretto; tal rara volta infine succhiano tanto che non possono più muoversi.

I *Culex* invece non s'adattano quasi mai a pungere nelle provette, tranne quando sono stati presi sul nostro corpo dove si erano posati per pungere. Raccolti allora rapidamente nelle provette e applicati sull'istante all'uomo o agli uccelli, di solito pungono facilmente.

È notevole il fatto che gli *Anopheles* sviluppati in una camera del laboratorio, e perciò liberi in essa, vengono facilmente a pungere, mentre ciò si verifica molto difficilmente per le varie sorta di *Culex*. Quando però la temperatura è elevata (verso i 30° C.) qualche volta alcuni e qualche altra molti ci assalgono. La qual cosa, peraltro, non ho mai ottenuto nelle camere scaldate artificialmente.

Questi fatti sono singolari e difficili a spiegarsi. Si deve forse ritenere con Ficalbi che i *Culex* di regola non pungono prima di essersi copulati e che la copula succeda difficilmente nelle nostre camere.

Le esposte circostanze rendono difficile sperimentare coi *Culex*. Le medesime difficoltà esistono presso a poco anche per i *Phlebotomus*, per i *Ceratopogon* e per il *Centrotypus*.

Gli esperimenti cogli *Anopheles* vennero fatti durante le stagioni non calde (7) nel seguente modo. Appena l'*Anopheles* aveva punto, si poneva nel termostato a 30° C. circa, in un piccolo vaso delle dimensioni suddette coperto di garza, avendo cura di aggiungere qualche filo d'erba e di far cadere sul fondo per mezzo di un cannello di vetro, in modo da non bagnare le zanzare, qualche po' d'acqua. Successivamente ho trovato che è meglio adoprare, invece dell'erba e dell'acqua, i fili di scopa e i batuffoli impregnati d'acqua (pag. 56).

La difficoltà maggiore sta nel far ripungere gli *Anopheles* ogni quarantotto ore. Molti se ne perdono, ma qualcuno sopravvive. Muoiono specialmente quelli che hanno le uova molto sviluppate, perciò nelle esperienze possibilmente escludo gli individui che presentano l'addome rigonfio dal quale traspaiono le uova.

In una camera a temperatura variabile da 15°-20°-24°, nel novembre 1899 tenni in vita circa 12 giorni gli *Anopheles* senza nutrirli; i parassiti malarici continuarono a svilupparsi e maturarono ma restando molto più piccoli del solito: passarono però anche nelle glandule salivari in notevole quantità.

Nei mesi estivi gli esperimenti in generale riescono più facilmente: basta lasciar liberi gli Anofeli che abbiano punto un individuo malarico, in una cameretta di tavole di legno avente almeno una parete di tela metallica. La cameretta deve essere costruita in un posto caldo, ma non deve ricevere i raggi diretti del sole: avrà circa 2 metri in ogni dimensione, dovrà essere costruita accuratamente in modo che non rimangano fenditure aperte. Vi si collocherà dentro un recipiente con dell'acqua. La porta d'entrata sarà raddoppiata all'interno da una portiera di tela bianca disposta in modo da lasciare una sorta di minuscola anticamera: di guisa che, con un po' di cura, entrando e uscendo si potrà evitare di lasciar sfuggire le zanzare.

In questa cameretta per un' ora o due entrerà lo stesso individuo che è stato punto dagli Anofeli la prima volta, come sopra si è detto. Ma specialmente per ovviare a qualunque pericolo di reinfezione dell' ammalato, dopo 8, 10 o 12 giorni gioverà nutrire gli Anofeli introducendo nella cameretta qualche coniglio.

Per sperimentare invece coi *Culex* conviene portare l' ammalato in una località in cui abbondino e là attendere il momento opportuno in cui essi vengono a pungere. Mentre stanno pungendo, si coprono con una provetta e così si prendono. Se la temperatura dell' ambiente è al disotto di 25°, i vasetti in cui vengono posti devono mantenersi caldi col calore naturale del corpo, finchè non si possano trasportare in un ambiente opportuno. Per esperimentare in particolare coi *Culex pipiens* si possono raccogliere molti di questi all' apertura di qualche cloaca sulla quale si pone un grande vaso. Questi *Culex* vengono poi liberati in una camera da letto dove l' ammalato dorme e sono raccolti man mano che pungono, da persone incaricate.

Quando si sperimenta con *Anopheles* non sviluppati in laboratorio, è utile pei principianti, far pungere contemporaneamente individui malarici e individui non malarici, o animali domestici. È facile però imparare a conoscere a occhio quale grandezza assumano i parassiti dopo 48 ore, a temperatura dell' ambiente di estate, ovvero da 26° a 30° nel termostato d' inverno: e una volta che si conosce bene quanto è grande il parassita in questo stadio, ogni fonte d' errore derivabile da precedente infezione degli Anofeli viene eliminata. Qualche raro parassita può bensì restare eccezionalmente piccolo, e perciò quando se ne trova uno solo bisogna andar guardinghi nel giudicare. Sarà bene di non sperimentare cogli *Anopheles* presi all' aperto se contengono ancora tracce di sangue; ciò potrebbe trarci in inganno nel giudicare l'età del parassita.

Quando si esperimenta sull' uomo coi *Culex* occorre far sempre *contemporaneamente* esperimenti di confronto cogli *Anopheles*, per assicurarsi che l' ammalato sia in buone condizioni, tenendo presente che l' ammalato buono al mattino può diventare inservibile già alla sera dello stesso giorno.

Siccome gli *Anopheles* digeriscono prima dei *Culex* e finita la digestione, a temperatura elevata, già dopo poche ore muoiono, così quando si fanno esperimenti di confronto occorrerà o esaminare gli *Anopheles* prima dei *Culex*, ovvero portare gli *Anopheles* in un ambiente fresco dove sopravvivono facilmente per un giorno anche senza nutrirsi.

Per far pungere gli uccelli dagli *Anopheles* di regola bisogna ricorrere alla provetta che si applica sopra una regione previamente spennata (Dionisi). Ricordo a questo proposito che gli *Anopheles* pungono mal volentieri gli uccelli.

Per far pungere gli uccelli dai *Culex*, d' estate possono servire le camerotte sopra descritte. In un modo simile a questo hanno sperimentato Ross e Koch.

### 3. Esame delle zanzare.

I parassiti malarici si cercano o nella parte dilatata dell' intestino medio (stomaco), o nelle ghiandole salivali. È del tutto fortuito il caso di trovar degli sporozoiti sparsi per il corpo dell' *Anopheles*.

Per esaminare i suddetti organi, l' Anofele viene cloroformizzato o ucciso colla benzina, gli si strappano colle dita delicatamente zampe e ali, e poi si mette sopra

un vetrino portoggetto. Con due aghi si isola l'intestino: l'uno infilzato tra il torace e l'addome tiene fermo l'*Anopheles*, l'altro poggiato sull'estremità dell'addome tira all'indietro, sicchè l'intestino medio viene strappato via insieme, presso a poco, coi due anelli posteriori.

Per isolare le ghiandole salivali la zanzara viene adagiata sopra un fianco: con un ago tenuto orizzontale si preme sul mezzo del torace, mentre con un altro ago poggiato sul collo (protorace) e premente contro la nuca si stacca la testa, a poco a poco e con molta leggerezza, di modo che le ghiandole salivali restino attaccate alla testa: da questa con l'ago si possono facilmente separare. Se per caso le ghiandole salivari non si staccano insieme colla testa, si può riparare a questo inconveniente premendo con un ago sulla parte antero-laterale del torace e così le ghiandole salivari schizzano fuori dal collo. In questa operazione è utile servirsi di un microscopio semplice.

Quando non si ha bisogno dei primi stadî di sviluppo, è preferibile esaminare gl'intestini, vuoti di sangue, in una soluzione di cloruro di sodio o in formalina (formalina del commercio gr. 2, acqua distillata gr. 100). L'esame in formalina riesce più facile. Trattandosi di constatare semplicemente se una zanzara è infetta consiglio senza esitazione l'uso della formalina nella suddetta diluzione.

Gli intestini contenenti ancora sangue, prima di esaminarli, si lasceranno svuotare negli or detti liquidi.

I preparati in formalina, se riguardano giovani stadî di sviluppo dei parassiti o se riguardano ghiandole salivali infette, si conservano abbastanza bene mettendoli in camera umida e aggiungendo da un lato un po' di picro-carminio che dopo 24 ore si sostituisce lentamente con glicerina. Il pigmento dei parassiti in questo modo si conserva benissimo.

Purtroppo però la formalina nella diluzione suddetta altera molto i parassiti malarici, producendo dei vacuoli anche molto ampî e rendendo in un istante irriconoscibili gli sporozoiti non maturi ([a]). È veramente doloroso il constatare quanto dannosa riesca la formalina; essa mi ha fatto perdere un tempo prezioso, e mi ha costretto a rifare molte delle figure del precedente lavoro (11), che rappresentano preparati alterati dalla formalina. Invece gli sporozoiti interamente maturi, per quanto ho veduto, non vengono quasi affatto guastati.

Bisogna ancora notare che la suddetta soluzione di formalina ha sulle ghiandole salivali un effetto singolarmente dannoso trasformando il secreto delle ghiandole salivali in corpuscoli fusati o in filamenti, che a fresco possono facilmente scambiarsi con sporozoiti alterati. Basta però un po' di pratica per distinguerli; molto più che gli sporozoiti hanno un grado di rifrangenza molto differente, non hanno dimensioni svariatissime, ecc. Questo inconveniente del resto si può evitare esaminando le ghiandole salivali in cloruro di sodio (0,75 %) ovvero nella seguente soluzione: acqua distillata gr. 100, formalina del commercio gr. 2, cloruro di sodio gr. 0,75. Anche i parassiti in via di sviluppo nell'intestino, esaminati in quest'ultima soluzione si alterano meno. Migliori risultati si ottengono usando la seguente soluzione: un albume

([a]) Probabilmente appunto perciò Ross, tratto in inganno, ha creduto che « *in several insects many full-sized zygotes appeared not to have ripened — that is, did not contain blast* ».

d'uovo, cloruro di sodio gr. 1,50, acqua distillata gr. 250: sbatti e filtra. I preparati si possono conservare sottoponendoli ai vapori d'acido osmico e poi passandoli in glicerina.

Se si vuol studiare il parassita malarico dal punto di vista citologico, riesce utile di isolare l'intestino in una soluzione di sublimato, nella quale poi si lascia per circa 2 ore; mi ha reso buoni servigi sopratutto la soluzione concentrata di sublimato coll'aggiunta di cloruro di sodio al $^1/_2$ $^0/_0$. Il sublimato alcolico acetico, il liquido di Flemming mi hanno dato risultati meno soddisfacenti, tranne che per lo studio particolare dei nuclei. Dopo il sublimato si usano gli alcool nel solito modo. Si ottengono buoni preparati trasportando gl'intestini dall'alcool in glicerina senza usare colorazione di sorta; il pigmento spicca benissimo.

Per ulteriormente studiare il parassita malarico occorre sezionarlo, dopo averlo incluso in paraffina e far delle sezioni molto fine (da $^3/_4$ di $\mu$ a 3-4 $\mu$). Si ottengono delle serie che si ricompongono; la difficoltà maggiore sta nel non lasciar piegare le sezioni più sottili, giacchè pur troppo anche fissandole con l'acqua molte si piegano.

La colorazione si fa sul vetrino portoggetto coll'ematossilina ferrica di Heidenhain o coll'emallume.

I preparati d'intestino *in toto* o spaccati con una forbice molto delicata, riescono bene quando l'intestino è stato conservato in formalina. Accuratamente procedendo coll'ematossilina ferrica suddetta, si arriva a colorire il parassita, lasciando l'epitelio dell'intestino incoloro o quasi; si ottengono dei bei preparati, purtroppo però alterati dalla formalina.

Col metodo delle sezioni si possono anche studiare i parassiti mentre sono ancora nel lume dell'intestino in mezzo al sangue, in digestione più o meno avanzata. Si isola perciò nel modo suddetto l'intestino medio, avendo cura di lasciar attaccata una porzione relativamente grande dell'intestino posteriore.

Si ottengono buoni preparati anche colle sezioni dell'Anofele intiero: si cloroformizza senza ucciderlo, gli si strappano ali e zampe e gli si versa sopra la solita soluzione di sublimato alcoolico-acetico bollente; prima che il liquido si raffreddi, il corpo dell'Anofele viene tagliato in 2 o 3 pezzi; si fanno i soliti passaggi e l'inclusione in paraffina. Questo metodo è ottimo per determinar la posizione dei parassiti e sopra tutto per lo studio delle ghiandole salivali infettate.

Gli sporozoiti (7) si studiano bene anche col metodo di Romanowski: si estrae l'intestino nella soluzione di cloruro di sodio 0,75 $^0/_0$, e con una leggera pressione si fanno uscire dalle capsule gli sporozoiti maturi; allora si diffonde pel liquido della preparazione un'enorme quantità di sporozoiti liberi.

Si raccoglie una goccia di questo liquido su un vetrino portoggetti, si fa disseccare e si fissa in alcool assoluto per 25 minuti, infine si lascia disseccare per 24 ore.

La colorazione si fa nel modo solito adoperando le soluzioni dei colori nelle stesse proporzioni che per il sangue (soluzione di azzurro di metilene medicinale 10 $^0/_0$, $cm^3$ 2, eosina cristallizzata B 1 $^0/_0$, $cm^3$ 5): dopo un tempo variabile da mezz'ora a tre ore si hanno i preparati perfettamente colorati: la cromatina nucleare di solito prende il colore rosso-carminio, o porpora, il protoplasma un colore azzurro o azzurro-roseo.

Lo stesso metodo si usa per istudiare gli sporozoiti nelle ghiandole salivali, e i parassiti, quando stanno ancora liberi in mezzo al sangue, più o meno digerito, contenuto nell'intestino.

## CAPITOLO IV.

# Brevi cenni sistematici e anatomici sugli Anofeli.

Questo capitolo è stato da me redatto in collaborazione col candidato in scienze naturali Noè, il quale sta lavorando intorno ad una Monografia dei Ditteri ematofagi.

Le descrizioni degli *Anopheles claviger, bifurcatus,* e *pseudopictus* sono sommarie; per ulteriori particolari rimandiamo il lettore all' opera fondamentale di Ficalbi.

Noi crediamo che sia giunto il momento di dividere la famiglia *Culicidae* in due sotto-famiglie: *Anophelinae* e *Culicinae,* lasciando per ora in disparte i generi *Megarhina* ([a]) e *Aëdes* intorno ai quali le nostre cognizioni sono troppo imperfette.

### Sottofamiglia **Anophelinae**.

*Palpi della femmina lunghi* ([b]) *circa come la proboscide. Numero degli articoli dei palpi femminili eguale a quello dei palpi maschili. Una sola spermateca. Zampe molto esili e notevolmente lunghe (quasi il doppio del corpo). Addome senza squamette. Larve orizzontali affioranti (essendo le larve prive di tubetto respiratorio gli stigmi si aprono sulla superficie dorsale del corpo, perciò l' animale respira tenendosi in tutta la sua lunghezza a fior d'acqua). Uova deposte sull' acqua, orizzontali, provviste di speciale apparato idrostatico.* Gen. *Anopheles.*

### Sottofamiglia **Culicinae**.

*Palpi della femmina molto più corti della proboscide* ([c]). *Numero degli articoli dei palpi femminili inferiore a quello dei palpi maschili. Tre spermateche.*

([a]) Questo genere ha però indubbia affinità coll' *Anopheles.*

([b]) È stato notato che nella femmina dell' *Anopheles* i palpi in riposo stanno paralleli alla roboscide costituendo con essa un fascio di tre pezzi (eccetto alla punta, dove restano alquanto scostati). Ciò è in rapporto colla circostanza che i palpi concorrono come il labbro inferiore, a proeggere il mazzetto dei sei pezzi chitinici pungenti. Nei *Culex* il labbro inferiore è ingrossato nella netà distale e i palpi sono corti. Negli *Anopheles* questo ingrossamento manca e i palpi sono lunghi, uasi supplendo alla minore protezione fornita al mazzetto dei sei pezzi chitinici dal labbro infeiore. I lunghi palpi servono però anche (come ha notato Noè) all' *Anopheles* per aiutare qualche olta l'estrazione della proboscide dalla ferita; in questo caso l'estremità libera dei palpi fa leva contro a cute. (Si ricordi di passaggio che nei maschi dei Culicidi i palpi in riposo stanno alla parte distale nolto discosti dalla proboscide).

([c]) Praticamente si può dire che in Italia ogni zanzara che ci punge, se ha i palpi lunghi irca come la proboscide, appartiene alle Anofeline, a meno che non sia un maschio della rara pecie detta *Culex elegans* (questo *Culex* è nero, molto ornato di bianco; risaltano particolarmente e sue zampe anellate di bianco).

*Zampe robuste e relativamente corte (circa come il corpo). Addome senza squamette. Larve oblique non affioranti. (Le larve, essendo provviste di un tubetto respiratorio all'estremità del quale si aprono gli stigmi, possono respirare approfondando il corpo sotto il livello dell' acqua, tenendosi più o meno oblique e spesso quasi verticali). Uova deposte nell' acqua, verticali e formanti la notissima barchetta.* Gen. *Culex.*

Praticamente anche ad una certa distanza si possono distinguere i *Culex* dagli *Anopheles* dal modo con cui si posano sulle pareti, sui vetri, ecc. Tanto gli uni, quanto gli altri hanno due modi di star posati. Un modo consiste nell'appoggiare tutte le tre paia di zampe sul sostegno. (Figure 1 e 2 intercalate nel testo).

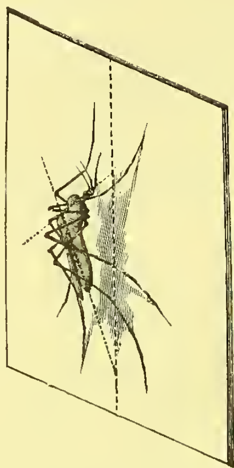


Fig. 1. — *Culex* poggiato colle tre paia di zampe ad un sostegno verticale. La direzione del corpo è indicata con linee interrotte, in questa e nelle figure seguenti.

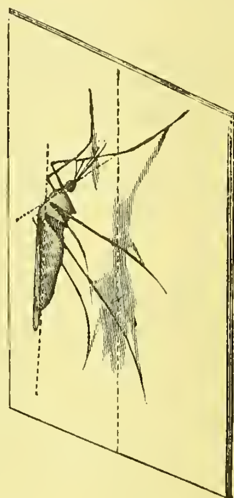


Fig. 2. — *Anopheles* poggiato colle tre paia di zampe ad un sostegno verticale.

Però per ambedue i generi la posizione prediletta è quella di appoggiarsi colle prime due paia di zampe tenendo l' altro paio scostato: gli *Anopheles* lo lasciano penzolare, sì che i tarsi continuano quasi la direzione delle tibie; i *Culex* invece incurvano i tarsi dorsalmente tanto che gli ultimi articoli sopravvanzano la parte dorsale del corpo. (Fig. 3, 4 e 5 nel testo). Facendo un confronto grossolano per rendere più chiara la cosa, dirò che l'*Anopheles* tiene le due zampe posteriori penzolanti, ricordando il cane quando porta la coda abbassata: il *Culex*, invece, tiene le due zampe posteriori curve all' insù, ricordando il cane quando porta la coda alzata.

In amendue le posizioni i *Culex* si distinguono facilmente dagli *Anopheles* per altre circostanze:

1° i *Culex* stanno molto avvicinati al sostegno perchè hanno le zampe corte (Fig. 1 nel testo); gli *Anopheles* invece ne stanno allontanati perchè hanno le zampe lunghe (Fig. 2 nel testo);

2° specialmente nella seconda posizione, l'estremità posteriore dell'addome sta molto discosta dal sostegno nell'*Anopheles*; in questo si può dire che l'estremità posteriore è in ogni caso la parte più allontanata dal sostegno, mentre nei *Culex* resta più o meno inclinata verso di esso, fin quasi a toccarlo (Fig. 1, 2, 3, 4 e 5 nel testo);

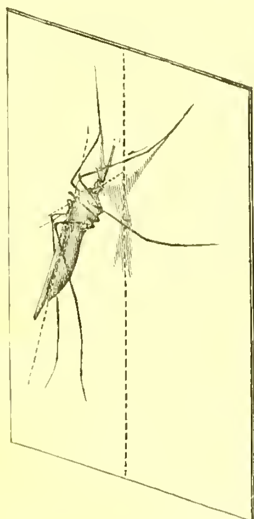


Fig. 3. — *Anopheles* poggiato con due paia di zampe ad un sostegno verticale e coll'addome più scostato che nella figura precedente.

3° *Culex* e *Anopheles* appaiono gibbosi; la gibbosità è in corrispondenza del torace. Ora, il *Culex* è più gibboso dell'*Anopheles*; e precisamente, la testa e il

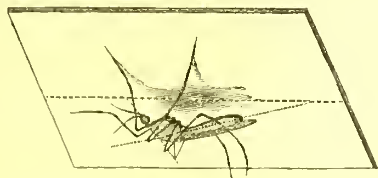


Fig. 4. — *Culex* poggiato con due paia di zampe ad un sostegno orizzontale (soffitto). (Terzo paio di zampe ricurvo dorsalmente).

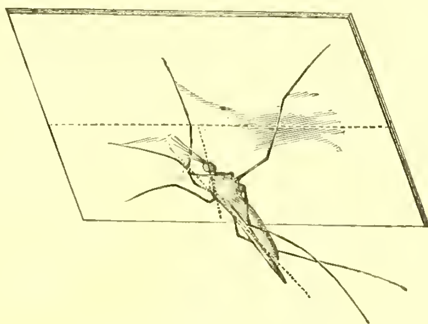


Fig. 5. — *Anopheles* poggiato con due paia di zampe ad un sostegno orizzontale (soffitto). (Terzo paio di zampe penzolanti).

torace fino all'inserzione delle ali formano col resto del corpo un angolo che osservato di fianco è evidentemente molto ottuso (Fig. 7 *a, b, c* nel testo) nell'*Anopheles*, mentre supera di poco l'angolo retto nel *Culex* (Fig. 6, *a, b, c* nel testo). Perciò si

può dire che negli *Anopheles* testa e proboscide sono diretti in avanti quasi sull'asse del corpo, nel *Culex* sono molto chinati (Fig. 6 e 7 nel testo).

*Anopheles* e *Culex* poggiano di frequente sulle volte, ma anche sulle pareti. Se non che gli *Anopheles* si lasciano penzolare dalle volte; ciò che non fanno i *Culex*. Nelle stalle è frequentissimo trovare *Anopheles* penzolanti dalle ragnatele ([a]).

Riprendiamo la descrizione delle *Anophelinae* (comprendenti per ora il solo genere *Anopheles*) aggiungendo alcuni particolari.

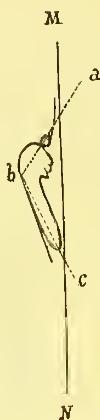



Fig. 6. — Corpo del *Culex*; *a b c* = angolo (v. testo). *MN* = piano su cui poggia il corpo. Le zampe sono state tralasciate.

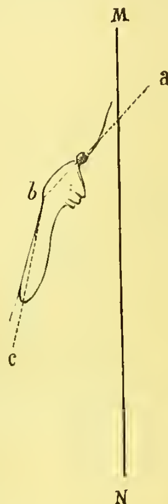



Fig. 7. — Corpo dell'*Anopheles*; *a b c* = angolo (v. testo). *MN* = piano su cui poggia il corpo. Le zampe sono state tralasciate.

Le uova lunghe circa $^3/_4$ di mm., appena depositate sono di color bianco, dopo qualche ora diventano plumbee: hanno la figura di una barchetta, che si rileva facilmente osservandole di fianco: da ambo le parti dove starebbero i remi della barca si notano due membranelle striate, ricurve che delimitano una cavità aprentesi superiormente con una strettissima fenditura e ripiena di aria. Questi apparati hanno certamente molta importanza per il galleggiamento dell' uovo (IV. 5).

L' *Anopheles claviger* depone le uova (IV. 4) a nastrini paralleli di 3, 4, 10 e perfino 20 uova nei quali esse sono avvicinate coi lati maggiori; tutti insieme for-

([a]) Nel suo *Report* (1900) Ross accenna anche alle posizioni dei *Culex* e degli *Anopheles;* nell'*Anopheles,* egli dice, l'asse del corpo è quasi perpendicolare alla parete *(vertical to the wall)*; nel *Culex,* invece, esso è parallelo! La figura illustrativa rappresenta l'*Anopheles* in posizione fuori d'equilibrio. Forse Ross è stato tratto in inganno osservando che gli *Anopheles* talvolta mentre pungono si dispongono quasi verticali; per es. sulla mano tenuta in posizione orizzontale. Anche lo schema di Strachan (15 dicembre 1899) è inesatto; però egli si esprime più esattamente di Ross.

mano come una tavoletta di varia forma, e qualche volta, appena deposte, in qualche punto della tavoletta le uova si trovano ammucchiate.

Le uova di *Anopheles bifurcatus* invece vengono depositate più o meno spiccatamente a stella, cioè in modo che si accostino cogli estremi (IV. 3).

Le uova di *Anopheles superpictus* furono da me trovate una volta sola, isolate l' uno dall' altro. Le uova di *Anopheles pseudopictus* non ci sono ancora note.

Si può calcolare che un *Anopheles* depositi circa un centinaio di uova. Le uova vengono agglutinate da una sostanza mucillaginosa, la quale serve fino ad un certo punto a ricondurle alla disposizione primitiva quando ne vengano allontanate da una leggera brezza; se però il vento soffia forte o l' acqua vien mossa bruscamente, allora le uova si staccano a gruppetti di 1-3-5 e si sparpagliano. Dal secondo al terzo giorno, dopo la deposizione (il tempo varia secondo la temperatura), le uova si schiudono e ne escono le piccole larve di colore oscuro.

La larva presenta caratteri poco differenti a seconda delle varie età. La sola differenza un po' notevole si trova nel capo che non cresce in proporzione col protorace per cui nella larva piccola è quasi largo come il protorace, mentre invece va diventando in proporzione sempre più ristretto a mano a mano che la larva ingrandisce.

Descriviamo perciò soltanto la larva adulta. Essa è stata fatta conoscere molto bene da Meinert (49) e noi non possiamo far altro che aggiungervi i caratteri specifici sfuggiti al suddetto autore e completarne la descrizione in qualche punto (IV. 6 e 7).

Il capo è pressochè conico ed un po' depresso; le antenne sono provviste di due grosse setole spiniformi all' estremità distale e di due setole plumiformi una all' estremità distale, l' altra collocata prima della metà della lunghezza dell'antenna. Gli occhi sono bene sviluppati: la bocca è provvista di robuste mandibole.

Anteriormente e ventralmente si notano due ciuffi di peli molto fitti, che prendono il nome di organi rotatorî, e sono molto più sviluppati che nei *Culex*; questi, insieme con tutta la parte anteriore ed inferiore del capo, si muovono in un modo speciale che qui non è il caso di descrivere, producendo nell'acqua una corrente che va verso la bocca.

Come ha notato benissimo Meinert, nel fare questi movimenti che si osservano per una gran parte della giornata, le larve stanno a galla, cioè affiorano l'acqua, tenendosi ordinariamente prone, ma con la parte ventrale della testa rivolta dorsalmente. Questa rotazione della testa, che è di 180°, si compie colla massima agilità e per quanto ho veduto solamente a fior d'acqua. Qualche volta però i movimenti suddetti si verificano anche in larve, che tengano la testa nella posizione normale, ma allora durano per poco tempo.

Veduto dal dorso il capo appare smussato; dai due angoli formati dalla smussatura sorgono due setole che hanno importanza per la determinazione della specie e alle quali perciò diamo il nome di *setole angolari*; dal margine anteriore del capo sporgono due altre *setole* molto lunghe che pure hanno valore specifico e che denominiamo *mediali* (IV. 16 e 17). La metà anteriore del corpo e l'estremità posteriore sono sparse di setole molto lunghe, visibili ad occhio nudo e più o meno ramificate, che rendono più stabile l' equilibrio delle larve.

Il penultimo anello si prolunga in forma di lamina quadrangolare (*scudo*) sul lato dorsale dell'ultimo, che è molto mobile. Rasente alla base dello scudo si aprono

due stigmi (IV. 7 *st.*). Lateralmente rispetto agli stigmi si trovano altre appendici dell'ottavo scudo: 1° una papilla fornita di due (?) peluzzi probabilmente sensitivi; 2° un *pettine* (IV. 7 *pet.*) con setole grosse, che servono molto probabilmente alla larva per afferrarsi.

L'ano è corrispondente all'ultimo segmento e circondato da quattro lunghe papille anali (Meinert) (IV. 6 *pap. an.*).

Raschke, credo per il primo, ha definite (nei *Culex*) le papille anali come branchio-trachee, ossia trachee branchiali; ma io non credo giustificata una simile opinione. Osservando le larve in un vaso di vetro, si rileva spesso che le papille poggiano sulla parete quasi servissero ad aderirvi.

All'estremità posteriore del corpo notansi anche tre ciuffi di setole, due doppî dorsali (IV. 6 e 7 *set. an.*) e uno mediano ventrale a mo' di ventaglio in direzione dorso-ventrale (ventaglio natatorio) (IV. 6 *vent.*). Le setole aiutano semplicemente le larve a disporsi e a riposare tra i vegetali galleggianti. Il ventaglio natatorio quasi certamente ha lo scopo di contribuire ai movimenti delle larve e fors' anche di dirigerli (esso è molto più sviluppato che nei *Culex*).

Togliamo dal Meinert le seguenti osservazioni:

« La larva si tiene alla superficie dell'acqua dove galleggia coll'estremità dell'addome rivolta verso il margine dell'acqua, o verso le piante che ne coprono la superficie; la larva è del tutto distesa nell' acqua toccando il margine o le piante coll'estremità dell'addome, e cogli stigmi alla superficie. La maggior parte dell'addome e la parte posteriore del torace sono immerse; emerge soltanto un piccolo tratto del suo torace, non tanto però da non essere inumidito; la testa infine è sott'acqua. La larva resta molto tempo immobile e si sposta soltanto di tempo in tempo... Lasciandola in riposo la si vede restare tranquilla o dolcemente scivolare rinculando. Se si fa un movimento brusco, essa s'agita molto vivamente e si precipita al fondo dell'acqua, poco dopo rimonta obliquamente alla superficie, colla punta della coda all'avanti. Ma se non ha preso abbastanza slancio per elevarsi alla superficie dell'acqua, siccome il suo peso specifico è maggiore di quello dell' acqua, ricade al fondo, dove può restare per parecchio tempo immobile..... Di tanto in tanto discende 2 o 3 pollici sott' acqua e la si vede fissarsi colla punta della coda alla parete del vaso. Può restare parecchi minuti in questa posizione colla testa in basso ».

Noi possiamo in complesso confermare queste osservazioni dell' egregio Autore olandese. Abbiamo notato che le larve sono dotate di due sorta di movimenti a seconda che stanno a galla o nuotano sott'acqua. Nel primo caso compiono un movimento di fianco, rapidissimo, tanto che non si può quasi distinguere lo scattare della parte posteriore del corpo che lo produce; questo movimento è tale che invece di spingere l'animale in avanti, lo fa arretrare obliquamente. L' altra sorta di movimento è più lenta e si verifica quando la larva s' innalza; anche in questo caso è l'estremità caudale che imprime il movimento, ma per il maggior sforzo che esso richiede, riesce più lento; si può definire un movimento a modo di frusta, e di fianco.

Noi non abbiamo notato che la larva scivoli dolcemente alla superficie, come asserisce Meinert; e neppure l'osservazione che l' insufficienza dello slancio preso per elevarsi alla superficie dell'acqua faccia ricadere le larve al fondo, rendendole anche

per parecchio tempo immobili, ci pare molto esatta. Noi invece abbiamo notato che la larva nel salire può successivamente prendere diversi slanci, e che quando la larva voglia abbassarsi, o toccare il fondo, vi si lascia cadere.

Riassumendo: la posizione e i movimenti della larva di *Anopheles* sono singolari; essa ruota il capo a destra o a sinistra di 180°; di solito si vede alla superficie dell'acqua, prona, colla parte ventrale del capo rivolta all'insù; movendosi a fior d'acqua, rincula obliquamente; per portarsi in giù, si lascia cadere, per portarsi in su, fa dei movimenti a frusta e di fianco; quando si innalza, o sosta in seno all'acqua, tiene la parte posteriore del corpo rivolta in alto; quando si ferma sul fondo, sta supina.

Questi particolari vengono qui rilevati perchè possono servire di guida a chi vuol raccogliere le larve di *Anopheles*; le quali, specialmente quando sono piccole, si possono a tutta prima confondere con quelle di altri ditteri appartenenti a tutt' altra famiglia, e precisamente al genere *Dixa* (49). La distinzione è, al contrario, facile, qualora si osservino i movimenti; le larve di *Dixa* si muovono anch'esse a frusta, ma essendo relativamente non soltanto molto più lunghe ma anche più esili delle larve di *Anopheles* il moto loro è molto lento e visibilissimo; vi prende parte anche la porzione anteriore del corpo. Aggiungasi che le larve di *Dixa* presentano dimensioni pressochè uniformi in tutta la loro lunghezza, e che mancano di quelle setole lunghe sparse per il corpo, cui abbiamo accennato per le larve di *Anopheles*. E un' ultima caratteristica delle larve del genere *Dixa* è di non fermarsi libere sulle acque come invece fanno talora quelle degli *Anopheles*; esse stanno costantemente vicine ai vegetali, alle rive, od alle pareti dei vasi, assumendo una curiosissima disposizione ad ansa colla concavità rivolta verso la superficie dell'acqua; spesso anzi con un movimento strano abbandonano l' acqua ritirandosi sui margini dove si trovano appunto nella disposizione ad ansa a loro prediletta.

Il colore delle larve di *Anopheles* non è costantemente verde d'erba, come asserisce Meinert, ma varia moltissimo anche nella stessa specie e nello stesso luogo; i colori più comuni sono il verde chiaro, il verde cupo, il caffè, il rossiccio cupo; spesso si osservano lungo il dorso degli ornamenti triangolari bianco-argentei o bianco-grigio (non si osservano forse mai nell'*A. bifurcatus*). Rare volte le larve sono completamente o parzialmente incolore; ciò si verifica per lo più nelle acque leggermente salmastre. La lunghezza delle larve è al massimo di 8 mm.

Le larve dopo circa 20, o 22 giorni d'estate (lo spazio di tempo varia con la temperatura), entrano in muta e ne escono in abito di ninfa, alquanto più piccole.

Le ninfe di *Anopheles* si distinguono facilmente da quelle dei *Culex* perchè, vedute di lato, presentano il margine dorsale dell'addome formante una curva semplice (IV. 8), mentre nelle ninfe di *Culex* questa curva presenta tante sporgenze spiccate indicanti i confini dei singoli anelli (Noè). Talvolta le ninfe di *Anopheles* si riconoscono perchè hanno conservato le ornamentazioni triangolari che avevano allo stato di larva ([a]).

([a]) Non posso associarmi all'opinione di Ross che le *ninfe* di *Anopheles* siano più piccole di quelle dei più ordinari *Culex*. La sua osservazione vale fino ad un certo punto soltanto per l'*A. superpictus*.

La ninfa, che è stata paragonata ad una virgola, presenta una parte anteriore molto grossa e compressa, l'altra posteriore sottile, depressa, che ha l'aspetto di una coda ed è in realtà l'addome; alla parte anteriore del torace sporgono dorsalmente le trombette che si riempiono d'aria ed hanno funzione idrostatica; al confine poi tra il torace e l'addome si riscontra una setola molto ramificata che affiora l'acqua e probabilmente rende più stabile l'equilibrio della ninfa (IV. 8).

Le ninfe di *Anopheles* come quelle di *Culex*, non si nutrono, ma si muovono; i loro movimenti sono prodotti dalla coda (addome) che per meglio rispondere allo scopo termina con due larghe lamine chitinose.

Le ninfe si muovono non già retrocedendo come le larve, ma progredendo con ripetuti colpi di coda; a ogni colpo di coda la parte anteriore ingrossata viene spinta in basso, e la ninfa si capovolgerebbe se non ricurvasse tosto la coda sotto la parte anteriore; perciò il movimento è difficilmente orizzontale. Di solito la ninfa come la larva sta a fior d'acqua e s'approfonda al sopraggiungere di qualche pericolo, o ad ogni movimento impresso all'acqua. Nell'approfondarsi le trombette trascinano ciascuna una bolla d'aria; perciò, e anche perchè presenta già quei sacchi aerei, di cui parlo a pag. 74 (Noè), la ninfa non può fermarsi libera in seno all'acqua, ma se vuol rimanere approfondata deve fissarsi ai vegetali o a qualunque altro punto d'appoggio. A questo proposito servono le lamine caudali, ed anche più efficacemente, due sottili filamenti che escono dal margine di dette lamine al polo opposto a quello d'inserzione. Quando la ninfa desidera tornare a galla si stacca dagli oggetti a cui aderisce, ciò che basta per farla risalire; qualche volta però affretta il movimento ascendente con qualche colpo di coda.

Dopo circa 3 giorni la ninfa si ferma alla superficie dell'acqua, e rialza lentamente la coda diventando così distesa; dopo breve tempo il carapace della metà anteriore del corpo si fende longitudinalmente dalla parte del dorso ed esce l'insetto alato, con replicati colpetti. L'insetto sta per alcun tempo adagiato sull'acqua, ciò che può fare in virtù di una speciale disposizione dell'apparecchio ungueale. In questo stadio è trasparente, specialmente all'addome; a poco a poco va però diventando opaco e rendendo visibili le sue tinte. In pochi minuti è capace di battere con forza le ali e spiccare il volo.

L'insetto alato, detto anche insetto perfetto o immagine ([a]) presenta il capo fornito di occhi composti grossissimi, di un paio d'antenne, di un paio di palpi e di una proboscide.

Le *antenne* sono costituite da quattordici articoli nella femmina, da quindici articoli nel maschio; il primo (*torulo*) è grosso ed incavato distintamente; gli altri sono forniti di setole disposte in verticilli. Queste, nelle femmine, sono brevi. Nei maschi oltrechè più abbondanti, sono molto più lunghe; vanno però diminuendo di lunghezza dalla base alla sommità dell'antenna; esse rendono *l'antenna del maschio piumosa*, come già rilevasi ad occhio nudo. Gli ultimi due articoli delle antenne

([a]) Gli zoologi mi condonino queste ed altre nozioni elementari, che forse possono riuscire utili ai medici

maschili sono molto più lunghi e sottili. (Questi caratteri gli *Anopheles* hanno comuni coi *Culex*).

I *palpi* tanto maschili quanto femminili sono costituiti di cinque articoli (Ficalbi); il 1° articolo è brevissimo, il 2° è molto più lungo, il 3° è ancor più lungo del 2°, il 4° è molto più breve del 3°, il 5° brevissimo; gli ultimi due articoli presi insieme danno una somma pressochè uguale a tutto il 3° articolo.

I *palpi maschili* hanno gli ultimi articoli rigonfiati, tantochè i palpi appaiono evidentemente clavati nel terzo terminale; inoltre posseggono un ciuffo di setole alla parte distale; esso ne lascia libero l'apice.

Riassumendo, i maschi sono distinguibili ad occhio nudo, o tutt'al più con una semplice lente d'ingrandimento: essi hanno le antenne piumose e i palpi clavati e pressochè penicillari, cioè quasi a pennello (IV. 23 e 27).

La *proboscide* (detta più esattamente *antlia*) è presso a poco come negli altri Culicidi (IV. 11 e 12): vi è una guaina (detta anche labbro inferiore, *proboscis* o *labium*) aperta longitudinalmente dalla parte dorsale e terminante colla cosidetta oliva (*l. inf.*); la guaina racchiude sei stiletti, lunghi circa quanto la proboscide.

La guaina non partecipa alla puntura; infatti quando l'Anofele punge, a mano a mano che gli stiletti penetrano nella cute, la guaina, ad un terzo circa dalla sua base, si piega ad angolo, il quale da ottuso che è al principio dell'operazione va riducendosi sino a diventare estremamente acuto quando l'apparecchio stilare è totalmente penetrato nello spessore della pelle (Reaumur).

Dei sei stiletti due impari, labro e ipofaringe (*labrum* e *hypopharynx*) formano il sifone. Precisamente, il labro detto anche labbro superiore (*l. sup.*) forma un canale aperto inferiormente, e l'ipofaringe (*ipof.*) è percorsa per il lungo da una stretta doccia: apponendosi le due parti formasi un tubolo. I quattro altri stiletti (mandibole e mascelle trasformate) disposti a coppie servono per pungere insieme al sifone e sono tutti forniti all'estremità libere di dentelli i quali sono però più sviluppati nelle mascelle (IV. 11 *mand.* e *mas.*).

La nuca è coperta di setoline fitte ed è circondata posteriormente e lateralmente da una corona di squamette a spatola. Al punto di congiungimento del capo col torace, questo è ristretto (collo): e dal lato dorsale del torace si distingue uno scudo, anteriore e uno scudetto, posteriore ([a]).

Il torace è dorsalmente ricoperto da fitte setole alla cui presenza sono dovute le colorazioni e le ornamentazioni speciali di esso; il margine posteriore è circondato da setole lunghe e sottili; mancano quasi sempre le squame o sono poche e piliformi.

Le ali sono percorse da dieci nervature longitudinali (Ficalbi): un'altra nervatura segna il margine anteriore dell'ala. Esistono anche alcune nervature brevissime trasversali.

È bene ricordare che le nervature 3ª e 4ª derivano dalla biforcazione di una nervatura primaria, e del pari la 6ª e la 7ª. Queste biforcazioni costituiscono le cosidette piccole forche, o forchette: in ogni forchetta si distinguono due ramuli e un manico, detto scapo (per scapo precisamente si intende il tratto della nervatura prima

([a]) Qui ed altrove evitiamo di stabilire omologie mancandoci spesso i dati necessari.

di biforcarsi, cioè il tratto che va dalla nervatura trasversa all' inizio della biforcazione). Ugualmente le nervature 8ª e 9ª derivano da biforcazione e costituiscono la forca o grande forca.

Le nervature sono coperte da squamette, le quali accumulandosi in determinati punti formano le macchie. Le squamette sono bruniccie o giallognole. Una triplice serie di squamette che circonda il margine interno (o posteriore) e l' apice dell' ala forma la così detta *frangia*.

Le clave o bilancieri (*halteres*), non presentano nulla di notevole. Nelle zampe l' anca, il trocantere, il femore, la tibia e i cinque articoli tarsali sono facilmente distinguibili.

Interessante è l' apparato ungueale, del quale si è tanto proficuamente occupato Ficalbi. Esso negli *Anopheles* è così costituito:

Nel maschio gli arti del primo paio terminano con una sola unghia tridentata; quelli del secondo e del terzo paio possiedono due unghie uguali e sdentate; nella femmina tutti gli arti posseggono un paio d' unghie uguali e sdentate.

L' addome degli *Anopheles*, come negli altri Culicidi, mostra otto anelli evidenti. Esso è sprovvisto di squame; è però assai ricco di peli, specialmente quello dei maschi.

All'ultimo anello addominale fa seguito l'armatura o apparecchio sessuale esteriore. L' apparato consta: 1° di due grossi *lobi*, sporgenti al di là dell' ultimo segmento, grandemente irsuti di setole, i quali fanno apparire forcuto il termine dell' addome; 2° di altre parti più piccole disposte in vario modo.

Quest' armatura sessuale è peculiarmente sviluppata nel maschio (Ficalbi ne ha fatto conoscere esattamente l' importanza sistematica).

*
* *

L' anatomia interna degli *Anopheles* non presenta molto interesse ad eccezione del tubo digerente, che è in rapporto collo sviluppo dei parassiti. Meritano tuttavia speciale considerazione anche gli organi di senso di questi animali, da cui importa molto di guardarci.

Non ho nulla da notare in particolare sul sistema nervoso; dirò soltanto che il cervello è molto sviluppato. Quanto agli organi di senso, gli occhi composti sono molto ampî, e si estendono fin quasi alle linee mediane dorsale e ventrale; dal lato ventrale sono quasi a contatto l' uno con l'altro; giudicando per analogia, si deve ammettere che essi non possano funzionare ad una distanza maggiore di circa 70 cm., che anche gli *Anopheles* non distinguano la forma dei corpi ma avvertano soltanto i movimenti dei corpi e le differenze d' intensità della luce. Che riconoscano i colori, è da dimostrarsi.

La sede dell'organo dell' olfatto deve essere l' antenna sulla quale trovansi le solite fossette coi rispettivi coni. Certamente gli *Anopheles* hanno l'organo dell'olfatto di gran lunga più fino di quello dell'uomo, sia per la distanza a cui può funzionare, sia per la delicatezza della funzione; e ciò induciamo dai fatti che gli *Anopheles* avvertono la preda anche se lontana di non pochi metri, che essi distinguono la natura di certi liquidi a distanza, cioè senza assaggiarli (ad es. l'acqua zuccherata dall'acqua semplice) e pungono a preferenza certe persone ecc.

La circostanza che preferiscono l'acqua zuccherata all'acqua semplice dimostra come probabilmente gli *Anopheles* abbiano il senso del gusto. Dove si trovino gli organi di questo senso, lo ignoro.

Nell'apparato boccale trovansi altri organi di senso che giudichiamo tattili. Organi di senso di significato discusso debbonsi trovare in corrispondenza agli *Halteres*. Parecchi autori sono dell' avviso che le setole delle antenne abbiano funzione uditiva. Nel torulo (che probabilmente deve considerarsi come 2° articolo) trovasi l'organo di Johnston, il quale a parere di Child (che lo ha studiato nei *Culex*), ha funzione tattile e uditiva: esso è più sviluppato nel maschio, nel quale insieme col resto dell'antenna dovrebbe servire anche a percepire il suono prodotto dalla femmina.

In varie parti d' Italia, esiste la ferma convinzione che le zanzare abbiano un udito finissimo, sicchè pungano specialmente quando si parla.

Concludendo, sugli organi di senso dell'*Anopheles* le nostre conoscenze sono piuttosto incomplete; possiamo tuttavia ritenere con probabilità che esso goda degli stessi nostri cinque sensi, ma che quello olfattorio sia predominante.

Nel tubo digerente (IV. 9 e 10) distinguiamo un intestino anteriore, uno medio e uno posteriore. L' intestino anteriore è diviso in faringe (*far.*) ed esofago (*es.*); dall'esofago si diparte un sacco (stomaco succhiatore o ingluvie) (*suc. princ.*) principale ventrale e due sacchi simili (*suc. acc.*) accessori, laterali; quello ventrale è molto sviluppato; pochissimo quelli laterali. L' intestino medio, detto anche stomaco chilifero o ventricolo, comincia con un piccolo tratto fornito di numerosi cechi (*cech.*); si presenta diviso nettamente in due parti: una anteriore ristretta (collo dello stomaco) (*col. st.*), una posteriore allargata (stomaco propriamente detto o parte dilatata dello stomaco) (*p. dil. st.*). Una valvola evidente riscontrasi al confine dell' intestino anteriore con quello medio.

Nell' intestino posteriore possiamo distinguere un ileo (*il.*), un colon (*col.*) e un retto (*ret.*); quest' ultimo anteriormente dilatato ad ampolla e quivi fornito di sei ghiandole rettali. La posizione delle singole parti risulta dalla figura schematica. Noto in particolare il confine dell' intestino anteriore coll' intestino medio circa a livello del primo paio di zampe; il confine dell' intestino medio coll' intestino posteriore circa nell' intersegmento tra il quinto e il sesto anello addominale. La parte dilatata dello stomaco comincia circa alla fine del secondo anello addominale.

L' intestino decorre in gran parte quasi diritto; sono notevoli però due curve dorsali l' una in corrispondenza al collo dello stomaco e l'altra in corrispondenza al colon (IV. 9). Il sacco principale arriva ad occupare la parte anteriore dell'addome.

Non è qui il luogo di precisare la minuta struttura del tubo digerente; mi limiterò a dire che la parete dell' intestino medio è dappertutto eguale. Essa consta andando dall' interno all'esterno: dell'epitelio intestinale sprovvisto di cripte e di una tunica elastico-muscolare fatta di fibre muscolari (circolari interne e longitudinali esterne) piuttosto distanti l'una dall' altra e cementate insieme da una sostanza connettivale di natura elastica. La membrana amorfa sottoepiteliale (ben nota negli altri Insetti) è molto sottile e difficile a rilevarsi con sicurezza. (Vedi pag. 132).

La parete dei sacchi è molto sottile e consta di un epitelio molto piatto rivestito all' interno di cuticola chitinosa molto sottile. Esternamente rispetto all'epitelio

si trovano fibre musculari, le quali permettono forse ai sacchi di funzionare come pompa.

Il brevissimo ileo è caratterizzato da un epitelio basso, rivestito di cuticola, differenziatasi, per quanto ho veduto, secondo linee ondulate trasversali in guisa da formàre creste minime longitudinali e parallele ([a]). L'epitelio del colon si presenta in genere un po' più alto e più granuloso; e mancano le creste della cuticola.

Nei sacchi si trova aria commista a pochissimo liquido incoloro; quando l'*Anopheles* ha appena succhiato, nel sacco principale (soltanto?) ho trovato sangue.

Quando l'animale si è nutrito di recente, si vede che il siero del sangue occupa un tratto anteriore della parte dilatata dello stomaco, mentre i corpuscoli sanguigni ne occupano il resto, ossia circa i tre quarti posteriori.

Sono annessi all' intestino le ghiandole salivari e cinque tubi malpighiani.

Le ghiandole salivari ([b]) sono relativamente molto sviluppate. Seguiamole cominciando dallo sbocco. Questo sbocco è impari, mediano ventrale, al principio dell' ipofaringe e precisamente della doccia che la percorre. A questo sbocco segue un breve canale (dotto escretore impari) che a livello del collo si è già diviso in due (dotti escretori secondari, pari), ricevendo ognuno dei due canali così originati, tre tuboli ghiandolari (IV. 14).

Questi tre tuboli, più o meno serpentini, avvicinati l'uno all'altro, per la rispettiva loro posizione possono denominarsi uno dorsale, uno ventrale e il terzo intermedio, hanno origine circa alla parte posteriore del collo, e arrivano fino al livello, circa, dell' inserzione del primo paio di zampe. Quello dorsale e quello ventrale sono lunghi circa un mm. Quello intermedio (*t. int.*) è molto meno lungo e in generale alquanto più largo, tranne al punto da cui si diparte, dove presenta una sorta di strozzamento, che denomino collo: questo collo è di lunghezza non del tutto costante. Qualche volta i tuboli presentano alcuni accenni di ramificazioni, talvolta uno, o più tuboli mandano un ramo che può essere piuttosto lungo.

I dotti escretori, sia quello pari che quelli impari, sono tappezzati di cuticola chitinosa a filo spirale, come nelle trachee: esternamente alla cuticola notasi la solita matrice.

I tuboli hanno differente struttura nelle varie loro parti. Non è qui il caso di farne una minuta descrizione; mi limito ad accennare ai punti principali.

I tuboli constano di uno strato di cellule ghiandolari e di una membrana basale sottile, apparentemente almeno, amorfa. Le cellule sono nettamente distinte in due parti: l' una basale o prossimale che si voglia dire, molto bassa; l' altra distale, più o meno alta. La parte prossimale risulta di protoplasma piuttosto denso e contiene

([a]) Quando l'ileo è dilatato riesce facile constatare che queste creste, molto avvicinate l'una all'altra, rappresentano ispessimenti della cuticola a livello delle linee che segnano i confini anteriore e posteriore delle cellule. Le creste non sono peraltro limitate a queste linee, ma invadono anche per un certo tratto le cellule contigue.

([b]) Macloskie le ha fatte brevemente conoscere nel *Culex*. Egli interpreta il tubo intermedio come ghiandola velenosa (perchè?). Egli descrive un serbatoio alla base dell' ipofaringe che, almeno nell'*Anopheles*, manca. — Dopo stampato il lavoro, distinsi nell'*Anopheles* due tuboli molto più sottili di quelli delle ghiandole salivari, alquanto allargati posteriormente dove terminano a fondo cieco. Ritengo che essi sbocchino nei detti escretori secondari e che sieno serbatoi della saliva.

il nucleo; la parte distale invece è costituita essenzialmente di secreto, circondato da uno straterello di protoplasma ispessito che forma come una membrana paragonabile alla teca delle cellule calieiformi dei vertebrati. Mentre nella parte distale a fresco i singoli territori cellulari sono perciò distinguibili, nella parte prossimale le cellule, per quanto io ho veduto, costituiscono un sincizio (pure nel tubolo intermedio?). Tuttavia negli *Anopheles* recentemente usciti dall'abito di ninfa anche in questa parte prossimale le cellule sono ben distinte l'una dall'altra.

Il secreto non è affatto eguale nei differenti tuboli e varia anzi nelle differenti parti di uno stesso tubolo.

Il tubolo intermedio, nella sua parte allargata è rivestito da cellule piuttosto basse, delimitanti perciò un ampio lume. Il secreto è piuttosto rifrangente e d'aspetto ialino, assume facilmente i colori acidi di anilina e si colora col picrocarminio in rosso; esso riempie anche il lume; raramente si scorge una separazione tra il secreto ancora contenuto nelle cellule e quello già versatosi nel lume del tubolo.

Al confine col collo le cellule ghiandolari diventano man mano più alte, restringendo così il lume, il quale diventa ad imbuto: esso si provvede di un rivestimento cuticolare sottile, che non appariva nella parte più allargata del tubolo.

Il collo presenta un lume ristretto e tappezzato di cuticola piuttosto spessa: esternamente rispetto alla cuticola notasi, come nella parte allargata del tubolo, uno strato di cellule, aventi però caratteri speciali. Sono cellule alte, col nucleo circa a metà della loro altezza; tra il nucleo e la cuticola il protoplasma presentasi differenziato come in tanti bastoncelli; tra il nucleo e la superficie esterna del tubulo presentasi invece ialino. Protoplasma granelloso in sottile strato riveste la cellula in tutta la sua altezza; e a fresco par di osservare traccia più o meno evidente di separazione del protoplasma granelloso di una cellula da quello dell'altra. Le cellule del collo non assumono con predilezione le sostanze coloranti sopra indicate per il resto del tubulo intermedio; la qual cosa spicca perchè anche in corrispondenza del collo il secreto contenuto nel lume si colora come nel resto del tubolo.

I tuboli dorsale e ventrale sono simili tra loro. Ognuno circa nella metà distale presenta secreto abbastanza rifrangente, e in quella prossimale, secreto meno rifrangente.

Questa differenza spicca molto già a fresco; si conserva anche sui tagli, molto più che spesso la metà distale dei tuboli si colora diffusamente coll' emallume, mentre resta quasi incolora la metà prossimale. Facilmente sulle sezioni di pezzi conservati direttamente su alcool assoluto, ovvero nella preparazione a fresco, quando l'osservazione si ritarda, il secreto delle metà distali dei tuboli appare granelloso, o in forma di filamenti talvolta delicatissimi, tal altra grossolani: ma si tratta di prodotti artificiali (alterazioni). (Vedi Cap. III).

Mentre apparentemente il secreto della metà distale dei tuboli dorsale e ventrale è molto simile a quello del tubolo intermedio, in realtà deve essere differente, non presentando alcuna predilezione per i sunnominati colori.

Anche il lume dei tuboli dorsale e ventrale è riempito di secreto.

In questi, nella parte del tubolo a secreto più rifrangente, il lume è piuttosto ampio e rivestito di cuticola sottile eccetto in un piccolissimo tratto confinante colla parte del

tubolo a secreto meno rifrangente. Tanto nel piccolissimo tratto or detto, come in questa ultima parte a secreto meno rifrangente, il rivestimento cuticolare è piuttosto spesso ([a]).

Io ritengo che ad ogni puntura venga eliminata appena una minima quantità di secreto: ciò suppongo perchè le glandole salivari dopo la puntura non mi apparvero affatto vuote di secreto; che anzi sui tagli non sono riuscito a distinguerle con sicurezza da quelle degli *Anopheles* affamati o ibernanti. A fresco però, talvolta per esempio il tubolo intermedio dopo la puntura sembra più ristretto del solito.

Un tempo mi venne il dubbio che la parte meno rifrangente dei tuboli dorsale e ventrale e il collo del tubolo intermedio, rappresentassero parti della ghiandola destinate a sostituire mano mano le restanti parti dei tuboli che andrebbero distrutte per effetto della secrezione; così i tuboli sarebbero in continuo incremento alla parte prossimale e in continua distruzione alla parte distale. Questo dubbio viene escluso dallo studio delle ghiandole salivari degli *Anopheles* neonati.

Nulla di particolarmente notevole nel vaso dorsale e nell'apparato respiratorio; richiamo l'attenzione sulle così dette cellule pericardiche, disposte lateralmente lungo il vaso dorsale come negli altri ditteri.

Il corpo adiposo è molto sviluppato, si riduce però molto a mano a mano che si sviluppano le uova.

Gli organi riproduttori maschili non presentano nulla di particolarmente notevole. In quelli femminili è particolarmente notevole la ghiandola che segrega la sostanza mucillaginosa che riunisce le uova; la membrana dell' uovo (chorion) invece viene formata nell'ovario. Esiste anche una spermateca sferica la quale facilmente si riconosce per il color bruno della cuticula che la riveste ed è fornita d' un lungo peduncolo.

* * *

Crediamo ora necessario dare dei brevi cenni sistematici, che permettano a chiunque di giungere facilmente alle specie italiane del genere *Anopheles*. Ficalbi nell' ultimo suo lavoro sui Culicidi dà una nuova tabella sistematica degli *Anopheles*; egli fonda la sua divisione, primaria, sulla forma dei femori, e le divisioni secondarie sui caratteri offerti dai palpi; perciò, prendendo le mosse da un carattere anatomico, la sua classificazione è scientificamente inappuntabile; tuttavia le distinzioni, essendo molto sottili, potrebbero riuscire poco pratiche per chi non è avvezzo a simili ricerche. Per questo motivo diamo qui una tavola sistematica che a nostro avviso riesce molto più facile.

### I. Ali macchiate.

A) *A. claviger*. Ala bruniccia con quattro macchioline nere due per il lungo e due per il trasverso (formanti una lettera T, ovvero L, ovvero Y a seconda della posizione in cui si osservano. Frangia dell'apice dell'ala, caduca, tenuemente ma evidentemente paglierina (IV. 21 e 34: colori tralasciati).

([a]) Il rivestimento cuticulare dei tuboli dorsale e ventrale (dov' è piuttosto spesso) e del collo del tubolo intermedio presenta un disegno indicante i singoli territori cellulari dai quali proviene.

B) *A. pseudopictus.* Ali con abbondante colorazione in parte nera e in parte gialliccia. Sul margine anteriore nero dell'ala tre evidenti macchioline giallo-paglia, di cui due spiccano maggiormente e lo interrompono (IV. 24).

C) *A. superpictus.* Ali in prevalenza gialliccie. Margine anteriore dell' ala su cui spiccano quattro tratti (lineette) neri ad intervalli quasi uguali di color giallo paglia (IV. 26).

II. ALI NON MACCHIATE.

D) *A. bifurcatus* (IV. 20).
(Più nericcio è in complesso il colore dell'*A. bifurcatus*, varietà *nigripes*).

Ordinariamente si distinguono le quattro specie nel seguente modo:

Nell'*A. claviger* le quattro macchie nere su ciascuna ala descrivono una lettera T, ovvero L, ovvero Y a seconda della posizione in cui si osservano.

Nell'*A. superpictus* le quattro macchie nerastre sono lineari e corrispondono al margine anteriore dell' ala.

L'*A. pseudopictus* ha una certa somiglianza coll'*A. superpictus*: le macchie lineari non si distinguono bene tutt'e quattro, e l'ala è in complesso molto più oscura.

Nell'*A. bifurcatus* le ali non hanno macchie, si dicono perciò immaculate.

Daremo un brevissimo cenno delle specie, soffermandoci però sull'*A. superpictus*, che non è stato ancora sufficientemente descritto.

## A. Claviger, Fabr. (1805) (IV. 34 e 21).

Sin. *A. maculipennis*, Meig. (1818).

Palpi in ambedue i sessi neri. Il dorso del torace presentasi grigio plumbeo con peli giallo ottone, come bipartito per il lungo da una striscia bruno-oscura mediana, e a ciascun lato fornito di una striscia parallela a quella mediana, di color bruno cioccolatte. Ali brunicce con nervature ricche di squamette; queste danno luogo a quattro macchioline nere così distribuite: una all' estremità prossimale, ossia all' origine della nervatura che si trasforma poi nel primo scapo; una seconda, talvolta visibilmente biloba, alla venula trasversa, che riunisce gli scapi delle due forchette e la nervatura interposta: una terza e una quarta rispettivamente al punto di confluenza dei ramuli in ciascuna delle due forchette. Estremo apice dell' ala leggermente giallo (colore dato dalle squamette marginali). Arti bruno-neri; ginocchi biondicci; una piccolissima orlatura gialliccia alle giunture delle tibie coi tarsi. Addome molto peloso specialmente nel maschio; il fondo è bruno-nero, i peli hanno un color giallo-bruno.

Le dimensioni variano secondo le località da 8 a 11 mm. (compresa la proboscide). Gli individui più grossi vennero da me trovati nell' Italia meridionale.

È specie molto diffusa in tutta la penisola e nelle isole.

Le larve si riconoscono ai seguenti caratteri: setole angolari del capo fatte ad alberetto; setole mediane sfioccate verso la sommità in peluzzi secondari (IV. 15).

### A. pseudopictus, Grassi (1899) (IV. 24).

Sin. *A. pictus*, Ficalbi (1896) (non Loew).

Palpi in ambedue i sessi bruno-neri; in quelli della femmina sono evidenti tre anellature in corrispondenza alle articolazioni 2ª, 3ª e 4ª. Dorso del torace cenerognolo, gialliccio, fornito di tre strisce longitudinali, come nell'*A. claviger*. Le ali sono colorate di nero e di chiaro giallognolo; prevale però molto il color nero; sono caratteristiche tre macchioline giallo-paglia sulla parte nera esterna (anteriore) dell'ala. La prima, cioè la prossimale, non giunge fino al margine, mentre le altre due vi arrivano, essendo così più evidenti. Femori del primo paio alquanto rigonfiati nel terzo prossimale. Le tibie, alla loro articolazione col primo articolo tarsale presentano una minuta anellatura. Tarsi con anellature bianchicce quasi limitate agli estremi distali dei primi tre articoli; gli anelli sono ad occhio nudo poco evidenti nel primo paio di arti; un po' più nel secondo, bene distinti nel terzo. Nel terzo paio il terzo anello invade anche tutto il quarto (penultimo) articolo, che è perciò totalmente bianchiccio. Addome dorsalmente bruniccio con fasce chiare anteriori, profondamente bicuspidate nel maschio. Dimensione da 9 a 11 mm. (compresa la proboscide).

È specie diffusa nella penisola italiana.

Le larve hanno anch'esse, come quelle degli *A. claviger*, le due setole angolari fatte ad alberetto; però le mediane o sono affatto semplici, oppure presentano uno o due ramuscoli brevissimi, visibili solo a forte ingrandimento (IV. 16).

### A. superpictus, Grassi (a) (1899) (IV. 26 e 27).

*Femori del 1° paio non ingrossati nel loro terzo prossimale. Ali in prevalenza di color giallo-paglierino, sul quale risaltano poche lineette nere, e precisamente: quattro macchie lineari o lineette sul margine esterno (o anteriore), separate tra loro da tratti pressochè uguali di color giallo-paglia; colla lente si distinguono altre due esilissime lineette pure marginali vicino alla base dell'ala e molte altre lineette più o meno evidenti lungo le nervature. Palpi bruno-neri nella femmina, bruno-giallicci nel maschio; su di essi spiccano delle anellature bianco-gialle, in numero di tre nelle femmine, di due sole nei maschi. Nelle prime, esse occupano le articolazioni: seconda, terza, quarta; nei secondi: l'articolazione terza e l'estremo distale del quinto articolo.*

(a) Questa specie ha un' indiscutibile somiglianza coll'*Anopheles albitarsis* F. Lynch A. Si differenzia principalmente per i seguenti caratteri assegnati da Lynch a quest' ultima specie: *tibiarum apice albo; tarsorum articulis 1-4 apice albis, ultimo fere toto albo.* Però Lynch ha trovato una forma che ha descritto come *variat immaturus*: *Pedibus, pleurisque testaceis; maculis albis obsoletis.* Perciò è lecito credere che l'*Anopheles superpictus* Grassi debba passare sinonimo di *Anopheles albitarsis* Lynch (29).

Incominciamo dalla *testa*. *Proboscide* nera con oliva di color aranciato-chiaro. *Palpi* della *femmina* lunghi quanto la proboscide; colorazione fondamentale bruno-nera, resa ancor più intensa ed addirittura nera alla base per la presenza di fitte squame di questo colore. Si distinguono molto bene, anche ad occhio nudo, due larghe anellature bianco-giallognole, corrispondenti alle articolazioni del 2° col 3° articolo e del 3° col 4°; ad esse partecipano le estremità distali dei rispettivi articoli e le prossimali dei successivi. L'estremità distale del 4° articolo e tutto il 5° articolo sono bianco-giallognoli. In qualche esemplare si può distinguere colla lente un cerchietto nericcio più o meno mal definito nel mozzo del 5° articolo.

*Palpi del maschio* lunghi quanto la proboscide; il colore fondamentale è bruno-gialliccio, sul quale spicca all'estremità distale del 3° articolo una larga fascia di color paglierino-chiaro: l'apice dell'ultimo articolo è dello stesso colore. In qualche esemplare è accennata anche una incompleta anellatura all'articolazione del 4° col 5° articolo.

Il *ciuffo* dei palpi (maschili) è poco sviluppato; esso è costituito da poche setole che si staccano dall'estremità distale del 3° articolo, divergendo in dentro verso la proboscide. Rari peluzzi, molto più brevi, sono sparsi sulla superficie mediale del 4° articolo.

*Antenne* gialliccie; il primo articolo, tondeggiante, bruniccio, alla parte dorsale di color aranciato-chiaro; gli ultimi due articoli, esili ed allungati, bruni. I peli delle antenne sono di color gialliccio-bruno.

La *nuca*, su fondo nero, presenta dorsalmente rari peluzzi giallo-oro chiaro, che formano come una fascia anteroposteriore; da questa partono: anteriormente due ciuffetti di peluzzi giallo-paglierini, che si protendono tra gli occhi, posteriormente una serie di squame spatoliformi nere, coronanti la nuca dalle parti posteriore e laterale.

Passiamo al *torace*. Il *dorso* è coperto di peluzzi di color giallo-paglierino; sono però visibili a forte ingrandimento delle esili squamette che facilmente si confondono coi peluzzi suddetti. Nel mezzo sono distinguibili due sottili strisce ravvicinate, di color giallo più intenso, le quali, partendo dal margine anteriore, si arrestano, nel terzo posteriore, ad un'areola ovale bruniccia nel mezzo e coi margini giallo-paglia. Lateralmente il torace presenta delle spolverature cenerognole su fondo isabellino cupo. Scudetto isabellino cupo.

Le *ali* hanno una colorazione fondamentale bianco-gialla, che però, verso il margine esterno (o anteriore) va diventando più intenso. Quivi spiccano elegantemente quattro lineette di un bel nero intenso, separate tra loro da tre tratti pressochè eguali di color giallo-paglierino. Le prime due lineette, contando dalla base verso l'apice, si estendono alle nervature *marginale*, *1* e *2*; la terza alla *marginale* e alla *2*; la quarta alla *marginale*, alla *2* e alla *3*. Altre due lineette nere si trovano, l'una alla base dell'ala, l'altra fra questa e la prima delle prime quattro sopra menzionate; dimodochè, in realtà le lineette marginali nere sono in numero di sei, mentre cinque sono i *tratti divisori*; le prime due sono poco visibili ad occhio nudo, perchè occupano solo la nervatura marginale. Altre squame nere si trovano qua e là accumulate a formare delle lineette raggruppate in guisa da dar luogo a fascie irregolari sfumate. Di tali fascie, una attraversa l'ala in corrispondenza al quarto tratto divisorio; un'altra, ancor meno distinta, si trova in corrispondenza al quinto tratto divisorio. La *frangia* è per la maggior parte di un color bianco-giallo, il quale va diventando sempre più debole

verso la base dell'ala; nei tratti corrispondenti alle celle *VI*, *VII*, *VIII* ed alla *lunula* ([a]) è leggermente nericcia. Come al solito, nei maschi i colori spiccano meno.

*Bilanceri* piccoli, chiari.

Arti. — *Anche* e *Trocanteri* bianchi. *Femori* bruni superiormente, inferiormente chiari; la loro estremità distale è orlata di giallo, per cui i ginocchi appaiono chiari. *Tibie* dello stesso colore dei femori con relativa orlatura all'estremo distale. *Tarsi* albonotati alle estremità distali e prossimali degli articoli; qualche volta la colorazione si estende fino a formare sottilissime anellature, per lo più incomplete. La maniera dell'unghiatura è la seguente: nel *maschio*, il primo paio di zampe possiede una sola unghia tridentata; il 2° ed il 3° paio possiedono due unghie uguali e sdentate; nella *femmina* le unghie sono due per ogni arto, uguali e sdentate.

Addome. — L'*addome*, nel *maschio*, è molto peloso. In quanto al colore, esso è bruniccio nella *femmina*; molto più chiaro nel *maschio*, nei segmenti del quale, tanto dorsalmente, quanto ventralmente, è evidente una fascia anteriore chiara bicuspidata, che occupa almeno i due terzi del segmento stesso.

Questa specie raggiunge al più la lunghezza di 7-8 mm. compresa la proboscide.

Finora è stata trovata unicamente nel mezzogiorno d'Italia, a Castelnuovo Vallo, a Grassano, a Policoro ecc. (Grassi, Ficalbi) ([b]).

Le larve si distinguono subito da quelle delle specie precedenti, perchè le setole angolari non sono ad alberetto; presentano bensì delle appendici secondarie all'intorno, ma esse sono ramuscoli, cioè rami molto brevi e semplici; le setole mediane assomigliano alle angolari (IV. 17).

([a]) Noè ha definito, nei Culicidi, lunula dell'ala, l'incavatura pressochè semilunare del margine posteriore, che si estende dalla nervatura *8* alla nervatura *9*.

([b]) *Aggiunta durante l'impaginatura.* — Avendomi il prof. Sambon favorito parecchi *Anopheles* dell'Africa occidentale, ho rilevato che vi esiste una specie la quale probabilmente corrisponde all'*A. minutus* Macquart (1834), all'*A. costalis* Loew (1866) ed all'*A. funestus* Giles (1900); essa è molto simile all'*A. superpictus*. Se ne distingue tuttavia per i caratteri seguenti: delle sei lineette marginali descritte nell'*A. superpictus*, la quarta, un po' ingrandita, si mostra di figura pressochè rettangolare, con un angolo (inferiore-prossimale) smussato nell'*A. superpictus*; con un'intaccatura (inferiore, vicina all'angolo prossimale) come in una chiave, nell'*Anopheles* dell'Africa; un' intaccatura simile, però meno evidente, vedesi in quest'ultimo alla quinta lineetta, ma nel mezzo. Inoltre la tinta generale nella forma africana è spiccatamente nera, motivo per cui le macchie delle ali sono meglio definite. Altre differenze importanti non ho potuto rilevare (neppure nei femori) non potendo dar peso alla piccolezza della forma africana, poichè è noto quanto le dimensioni variino nei Culicidi.

Avendo ricevuto nell'inverno del 1899 un esemplare di *Anopheles* da Calcutta, inviatomi da Ross, conclusi, dalla presenza nell' ultimo articolo dei palpi di un anello mediano bruniccio, che si trattasse di una nuova specie affine all'*A. superpictus* (piccola specie dell'India: *A. subpictus*). In stagione più opportuna ho potuto verificare questo stesso carattere in alcuni esemplari italiani. Recentemente un *Anopheles* di Giava, favoritomi da Thin, venne da me trovato indistinguibile da quello di Calcutta. L'unica differenza rilevabile tra i due esemplari asiatici e l'*A. superpictus* è nell'ala: delle sei lineette marginali, la terza un po' ingrandita appare, nella forma asiatica, di figura rettangolare con un angolo (prossimale-inferiore) smussato; la quarta è quasi intermedia tra quella della nostra forma e quella della forma africana e di più presentasi incompleta nella porzione distale-inferiore. Riferendomi ai criteri adottati per classificare gli altri Culicidi, ritengo le forme europea, africana ed asiatica, come varietà di unica specie, che forse dovranno denominarsi *A. minutus* (forma africana), *A. minutus* var. *superpictus* (forma europea), *A. minutus* var. *subpictus* (forma asiatica).

**A. bifurcatus**, Lin. (1758) (IV. 20).

Sin. *A. nigripes*, Staeger (1839).

Palpi in ambedue i sessi neri. Dorso del torace come nell'*A. claviger*.

Ali fuligginose, specialmente nella varietà *nigripes*, dove sono quasi completamente nere; nessuna macchia visibile nè a piccolo, nè a forte ingrandimento (tracce di esse possono comparire in individui colle ali un po' logore). Arti neri; ginocchi con punto bianco; così pure la tibia è leggermente bianchiccia all' articolazione col primo articolo tarsale. Tarsi senza ornamentazioni speciali. Addome nero con peli giallo-bruni. Lunghezza da 7 a 9 mm. compresa la proboscide. La varietà *nigripes* è in generale più piccola; si distingue per l' intensità del suo color nero.

L'*A. bifurcatus* è specie boschiva, diffusa in tutta la penisola; è molto più numerosa nell' Italia meridionale.

Le sue larve si distinguono dalle altre del genere *Anopheles* per l'assoluta mancanza di peluzzi sulle setole angolari, le quali sono perciò affatto semplici; setole mediane pure semplici. Anomalamente tanto le une quanto le altre possono essere biforcate alla base ed all' estremità; anche in questo caso però le setole sono affatto sprovviste di peluzzi secondari.

Chi ha seguìto attentamente la descrizione delle larve delle singole specie, avrà già rilevato come lo specchio riguardante il genere degli *Anopheles*, che abbiamo dato di sopra, sia reso anche più accettabile dallo studio delle larve.

Ciò risulta anche più chiaramente dal confronto della seguente tavola di classificazione delle larve:

I. Setole angolari del capo con rami secondari.

1°. Setole angolari fatte ad alberetto.

A) Setole mediane con numerosi rami alla loro sommità:

*A. claviger* (IV. 15).

B) Setole mediane con rari (uno o due) rami alla loro sommità, oppure affatto semplici:

*A. pseudopictus* (IV. 16).

2°. Setole angolari con brevi ramuscoli all' intorno:

*A. superpictus* [a] (IV. 17).

II. Setole angolari del capo affatto semplici ossia affatto sprovviste di rami secondari (anomalamente biforcate).

*A. bifurcatus* (IV. 18).

[a] Delle specie *A. superpictus* e *pseudopictus* ebbi pochissime larve: perciò saranno utili più estese ricerche.

## CAPITOLO V.

# Cenni sui costumi degli Anofeli.

Ho già detto in un precedente capitolo che le varie specie di *Anopheles* presentano diversità circa al luogo di abitazione. In questo capitolo l'argomento dell'abitazione vuol essere trattato più minutamente.

### 1. Anopheles claviger.

Gli *Anopheles claviger* si sviluppano dall'acqua palustre, come sopra ho accennato. L'acqua palustre può trovarsi nelle più differenti località e condizioni; può essere in aperta campagna, brulla e arsa dal sole, può trovarsi in mezzo a un bosco o a una macchia poco alta e poco folta: si deve notare però che non ho mai trovato larve laddove l'acqua è costantemente riparata dai raggi solari. L'acqua in cui si sviluppano le larve può presentare una superficie molto estesa, o più o meno limitata. Eccezionalmente si sviluppano gli *Anopheles claviger* anche in acqua non palustre per es. in un recipiente pieno d'acqua che per caso si trovi in un giardino (pag. 45).

Gli alati, d'estate, sentono il bisogno di succhiar sangue di solito due o tre giorni dopo la nascita; quando il calore si fa meno sentire, questo bisogno si manifesta più tardi. Nel frattempo, i neonati sogliono cercare un posto, relativamente vicino, dove mettersi al riparo dal sole, dal vento e anche dalla pioggia: si nascondono tra le erbe alte, palustri o no, tra le canne, tra i rami degli arboscelli e degli alberi, sotto i ponti, nelle capanne, specialmente se intessute di rami, nelle case, nelle stalle, tra la paglia, nel fieno ecc., e se non trovano questi ripari in vicinanza all'acqua, vanno a cercarli anche in luoghi relativamente lontani. In campagna poggiano sulle foglie, sui rami; nelle case, se il locale vien tenuto scuro, stanno di solito sul soffitto, o a gran preferenza sulle ragnatele; invece nelle camere da letto, che facilmente si tengono aperte per molte ore della giornata, si riparano per lo più sotto i tavoli, sotto il letto, perfino nelle scarpe ecc. Nelle latrine si trovano di rado; in complesso si può ritenere che vi si riparino soltanto quando non trovano località più opportuna.

Cominciano a mangiare prima di copularsi (sempre?) ([a]). Il cibo ordinario delle femmine è il sangue. Ficalbi le ha vedute sopra le frutte suggere sostanze vegetali

([a]) È infondata l'opinione di Celli che « le nuove generazioni degli Anofeli ricominciano a pungere nella seconda metà di giugno e nella prima di luglio ». Esse pungono già in aprile e in maggio.

e perfino sopra le immondizie nelle latrine. Io e Noè le abbiamo sorprese mentre si nutrivano dei succhi di graminacee verdi e di pannocchie di maiz ancora immature; assorbono anche acqua allorchè non trovano sangue. Si tratta in ogni modo di casi eccezionali di ben poca importanza. Si nutrono però volentieri di acqua zuccherata e con questo nutrimento, nei primi mesi del 1900 le abbiamo tenute vive perfino un mese in camera riscaldata a 15°-25°; andarono però deperendo a poco a poco, le uova si atrofizzarono ecc. In breve si può dire che alle femmine degli Anofeli la dieta vegetale non basta e il sangue è indispensabile.

Pungono, per quanto ho veduto, esclusivamente gli animali a sangue caldo. Il sangue a loro prediletto è quello dei mammiferi, ma qualche volta s' adattano (sebbene, a quanto sembra, non sempre volentieri) a pungere gli uccelli (galline, passeri, uccelli di rapina ecc.).

Non credo che tra i mammiferi abbiano predilezioni; sebbene sia certo che pungono di più i mammiferi più voluminosi, sicchè, per esempio, se si trova un uomo vicino a un cavallo, non di raro il cavallo ha già avuto molte punture prima che l' uomo ne abbia ricevuta alcuna; così pure tra l' uomo e un coniglio, l' uomo è in generale assalito prima. Questi fatti ed altri simili, che taccio per brevità, non dimostrano tuttavia una predilezione, ma vanno messi invece in rapporto colla circostanza che solo l' olfatto indica la sua preda all'Anofele, il quale perciò avverte più facilmente gli animali più voluminosi. Così almeno io mi spiego la circostanza che se l'aria è appena mossa, ciò che certamente basta già a turbare molto la funzione dell'organo dell'olfatto, l' uomo viene rispettato dagli Anofeli i quali si buttano tutti per es. sulla pancia dei cavalli.

Tornando agli Anofeli neonati, quando sentono la fame cercano dunque di nutrirsi. Può darsi che a qualcuno capiti l'opportunità di pungere un mammifero nel luogo stesso dove si è riparato subito dopo la nascita; la maggior parte, però, deve allontanarsi più o meno a seconda della località. Noi li vediamo, perciò, appressarsi alla preda in frotte che provengono da luoghi più o meno lontani. In complesso sta il fatto che entrano nelle case di gran preferenza da quelle porte e da quelle finestre che guardano l'acqua in cui si sono sviluppati; alle altre porte e finestre, più o meno diametralmente opposte, si presentano di raro o anche non si presentano punto.

Pungono tanto all'aperto, come nelle case e nelle stalle. Nei paesi malarici si ripete per molte giornate all'ora del tramonto lo spettacolo di coorti innumerevoli di Anofeli, i quali assalgono gl' individui che stanno seduti sulla porta della casa chiacchierando o cenando. Dopo aver punto, cercano un riparo simile a quello che hanno abbandonato per procurarsi il nutrimento, anzi, se lo trovano vicino, possono tornare allo stesso posto di prima.

In seguito a molte osservazioni dirette posso dire che, all' aperto, gli Anofeli dopo che hanno punto, si riparano di solito sulle piante vicine, dove restano a compiere la loro digestione. Questo fatto si può facilmente verificare, per esempio, a Torreponti, dove, vicino al casale v' è una piccola piazzetta con molte piante di *Eucalyptus*, alcuni dei quali coi rami molto bassi, e perciò comodamente osservabili.

Certi Anofeli dopo di aver punto si rifugiano sotto i porticati, nelle camere, nelle stalle ecc. In complesso, però, sono così carichi di sangue che mal reggono al

volo: si poggiano perciò non di raro anche sulla parete esterna dei muri delle case, vi restano delle ore, ma al mattino seguente non vi si trovano più.

Quelli che pungono nelle case, o nelle stalle, quivi cercano un cantuccio opportuno e si nascondono a digerire.

Non si può dire che gli Anofeli — in questo paragrafo dove per brevità dico Anofeli o *Anopheles*, intendo parlare dell'*Anopheles claviger* — siano quasi sempre domestici; a noi sembra così perchè nelle abitazioni sono più facilmente visibili che tra i rami delle piante.

Una volta che si sono pasciuti e rifugiati in luogo opportuno, sopratutto non esposto alla luce diretta, gli Anofeli, se non vengono disturbati, non si discostano finchè abbiano di nuovo fame; ciò che d'estate accade già dopo 40, 50 ore. Quando non fa caldo digeriscono più lentamente; alla temperatura costante di 15° un pasto basta loro per dieci e più giorni.

Ma dobbiamo tener presente che gli *Anopheles* oltre al bisogno di nutrirsi hanno anche quello di fecondarsi e poi a suo tempo di deporre le uova.

Orbene, i maschi seguono, almeno in parte, le femmine; perciò li troviamo facilmente anche nelle case, eccetto che in inverno. Essi, per quanto abbiamo finora veduto, non assumono mai alimento di sorta; ne abbiamo visto qualcuno fare veri tentativi per pungere, ma l'apparato boccale si piegava senza introdursi nella pelle. Quando e dove avvenga la fecondazione non abbiamo potuto precisare.

A questo proposito è d'uopo notare che sulla copula dei Culicidi manchiamo di qualunque notizia. Il 13 dicembre 1898 in una camera calda del mio laboratorio abbiamo tuttavia sorpreso, verso le cinque pomeridiane, due coppie di *Culex spathipalpis*. Una fu osservata attentamente; la femmina era ferma sopra un regolo di legno d'una invetriata della finestra: il maschio stava attaccato alla femmina, fermo esso pure, ma muoveva di tanto in tanto una delle zampe anteriori.

Raccolte le coppie, si osservò che le femmine e i maschi erano digiuni e che le uova erano molto arretrate nello sviluppo. Probabilmente l'*Anopheles* si comporterà come il *Culex* suddetto.

Nei nostri allevamenti artificiali abbiamo osservato che le uova, in una camera tenuta a una temperatura variabile di 20-25°, impiegarono circa 30 giorni a diventare insetti perfetti; questi dopo altri 20 giorni depositarono le uova. Nel colmo dell'estate lo sviluppo e la maturazione sessuale avviene più celeremente.

In ogni modo perchè la femmina maturi deve prima nutrirsi ripetutamente. Il fermarsi o no nello stesso locale, dove essa ha punto la prima volta, dipende da molte circostanze. Se, per esempio, cosa che accade sovente nelle nostre campagne, una stalla o una camera da letto resta disabitata, gli *Anopheles*, che vi dimoravano, dovranno allontanarsi per cercare il nutrimento; e lo stesso avverrà in aperta campagna se spira forte vento, se piove molto, ecc.

La quantità di sangue che le femmine degli Anofeli possono succhiare diventa minore man mano che le uova maturano.

Finalmente un bel giorno vanno in cerca dell'acqua per depositare le uova; per questo scopo molte volte sono costrette ad allontanarsi notevolmente. Alcuni ritengono che i Culicidi, dopo aver depositate le uova, debbano morire; ora io ho verificato invece

che, sebbene molti in occasione di una sì delicata operazione qual' è il deporre le uova, per varî accidenti vengano a morire, tuttavia ve ne sono di quelli (se molti o pochi non so) che superano tale momento critico. Infatti io ho potuto osservare parecchi Anofeli i quali dopo qualche ora che avevano finito di deporre le uova, prendevano nutrimento, pungendo avidamente: essi sopravvissero parecchi giorni, e poi morirono probabilmente perchè l'ambiente era sfavorevole. Certo è che dopo depositate le uova gli ovari sono ancora in condizione di poter dar luogo a una seconda produzione di uova e probabilmente non soltanto per due volte, ma per parecchie volte è possibile che l'ovificazione si ripeta. Si capisce però che molti individui vanno nel frattempo perduti per diverse ragioni. Certo è che quando al tramonto ci mettiamo in un posto in direzione di un padule e raccogliamo gli Anofeli che vengono a pungerci, vediamo che la gran maggioranza è costituita da neonati; non mancano peraltro quelli che evidentemente hanno le ali un po' sciupate per la caduta di squame e che perciò ritengo nati da più tempo e reduci dall'aver deposto le uova.

Ritengo inoltre che tutti o quasi gli *Anopheles* che hanno superato l'inverno muoiano dopo aver depositato le uova ([a]). Così a Maccarese e nei dintorni dal 2 al 15 aprile del corrente anno, non ho potuto trovare un solo *Anopheles*. A Ninfa al 6 aprile erano ancora abbondanti, al 12 dello stesso mese il mio inserviente in una giornata di lavoro raccolse una sola femmina (probabilmente vecchia).

L'anno scorso la morte delle femmine vecchie appariva meno evidente perchè già ai primi di aprile si trovavano maschi e femmine neonate, che mancavano invece quest'anno.

La differenza tra l'anno scorso e quest'anno si può spiegare colle continue pioggie cadute nella primavera attuale.

I maschi ([b]) muoiono molto presto, come abbiamo osservato ripetutamente in occasione dei nostri allevamenti.

Nel piano lombardo irriguo durante la prima metà di settembre (un po' prima o un po' dopo secondo che i calori estivi cessano più o meno precocemente) gli *Anopheles* in complesso tendono a mettersi in condizione di poter ibernare. Si può dire che nella scelta del locale essi vengono guidati dal calore. Anche nell'estate evidentemente preferiscono i luoghi caldi purchè non siano illuminati dalla luce diretta del sole. Questo bisogno di calore si manifesta più sensibilmente coll'avanzare dell'autunno: cominciamo infatti col trovarli difficilmente tra le piante, poi nell'Italia settentrionale vanno scomparendo da quei ponticelli oscuri dei canali d'irrigazione, i quali sono il loro luogo prediletto; si ritirano nelle case, più specialmente nelle camere meno fredde. In complesso tendono anche sempre più a nascondersi. Intanto mangiano molto di raro.

Cito un caso speciale. L'anno scorso nella seconda metà di settembre e nella prima metà di ottobre a Locate Triulzi, vicino a Pavia, gli Anofeli nelle case erano numerosissimi: se ne trovavano dappertutto. Così nella sala d'aspetto della

([a]) Questi dati valgono a completare quelli riferiti alla pag. 48, che fu corretta il primo aprile.

([b]) Da ogni deposizione di uova nascono prima i maschi e poi le femmine; ciò abbiamo osservato ripetutamente.

stazione ferroviaria ne raccolsi più di trecento, sotto le panche, sotto il tavolo e dietro gli avvisi. In altri luoghi dov' erano pure in gran numero in posizioni simili, senza che io li disturbassi, scomparvero nella seconda metà di ottobre. In principio di novembre si erano così ben nascosti che in molti luoghi non era possibile trovarli. A un secondo piano però ne rinvenni molti in uno scaffale a muro, di una camera mezzo oscura; il proprietario mi assicurò che ciò si verifica tutti gli anni e che gli Anofeli vi restano tutto l'inverno. Fatti simili ho verificato anche altrove.

Durante l'inverno non si trovano maschi; le femmine sono tutte fecondate, in gran parte colle uova ancora arretrate nello sviluppo e non si nutrono; qualche volta soltanto, se per un caso l' ambiente si riscalda, vengono a pungere.

Ai primi tepori primaverili ricominciano a mangiare e, quando le uova sono mature, escono a depositarle.

Nella campagna romana le cose procedono un po' differentemente. L' ibernazione ritarda e dura più poco: durante l'ibernazione la temperatura si alza non di raro tanto da permettere agli Anofeli di pungere. Anzi durante l' inverno mite del 1898-99 trovai sempre nelle camere da letto qualche Anofele con sangue.

Alla fine di novembre e in principio di dicembre 1899 a Sezze gli Anofeli erano abbondanti, ma per trovarli occorreva il lume perchè essi stavano nascosti in luoghi oscuri.

Quanto più in un paese l'inverno è mite, tanto più breve e meno intensa è la ibernazione.

Abbiamo tratteggiato così per somme linee le abitudini dell'*A. claviger*; completeremo l'argomento facendo alcune aggiunte.

In complesso, l'*Anopheles claviger* per quanto ami il soggiorno nelle case, non vi si ripara quando vi si fa fumo. Poche sono le eccezioni a questa regola, la quale appare subito del più alto interesse pratico.

Riguardo al tempo del nutrirsi, si può dire che l' ora prediletta è il tramonto, quando comincia a imbrunire, poco prima che l'oscurità sia completa. Anche al sorgere del giorno, poco prima che la luce sia piena, pungono facilmente. Ma questo non deve far credere che di giorno o di notte gli Anofeli se ne stiano inerti. Se di giorno ci mettiamo in un luogo aperto ma ombreggiato, nel quale vi siano degli Anofeli, non è raro che vengano a pungerci, specialmente se ci addormentiamo; lo stesso accade nelle abitazioni, purchè non penetri dentro luce viva, ovvero quando è nuvolo.

Gli Anofeli pungono anche durante la notte, se però la temperatura non è troppo bassa. La notte dal 20 al 21 luglio venne da me passata a Maccarese per sorvegliare l'ara; al tramonto spirava, come al solito, un po' di vento e gli Anofeli non si fecero vedere da noi che sedevamo davanti alle capanne. Verso le 21 e $^1/_2$ l'aria diventò immobile; faceva caldo, splendeva la luna; noi stavamo sdraiati davanti alle capanne e mal ci potevamo difendere dagli Anofeli. Dentro le capanne essi non tormentavano meno. Continuarono a pungere fino alle 2; dalle 2 alle 4 non se ne sentì alcuno, perchè la temperatura si era abbassata; dalle 4 circa alle 6 ripigliarono a pungere in modo orribile.

In Lombardia il numero delle ore della notte in cui gli Anofeli non pungono è in generale molto maggiore che nell' Italia media e meridionale, appunto per la diversità di temperatura.

Una circostanza che vuol essere precisata è la seguente. Di pieno giorno e anche a notte fatta, gli Anofeli in generale non si allontanano dalla loro dimora. Di giorno questo fatto è evidentissimo perchè non ci accadde mai di esser punti all'aperto, cioè, alla luce viva. Di notte la cosa è più difficile a dimostrarsi; ma ognuno può persuadersi come, prima che l'oscurità sia perfetta, il numero degli Anofeli che vengono a pungere sia di gran lunga maggiore che a crepuscolo più avanzato o a notte fatta. Stando presso le finestre riparate dalla rete metallica si rileva del pari che prima dell'oscurità perfetta, gli Anofeli hanno già cessato ogni tentativo di penetrare nelle stanze e si sono allontanati. Probabilmente quando splende la luna e contemporaneamente fa caldo, gli Anofeli possono scostarsi dalla loro dimora anche nel cuore della notte.

Riassumendo, possiamo distinguere due casi. In un primo caso l'Anofele, trovandosi vicino alla sua vittima può pungere di giorno, di notte o ai crepuscoli, cioè quando ha appetito. In un secondo caso comunissimo a verificarsi per i neonati, gli Anofeli si trovano lontani dalle loro vittime; allora i momenti di pungere sono per lo più i crepuscoli; a preferenza quello serale perchè al sorgere del giorno la temperatura è di solito troppo bassa.

La luce di notte attira fino ad un certo punto gli Anofeli, come si può verificare facilmente nelle stazioni ferroviarie.

A questo riguardo è d' uopo richiamar l' attenzione sopra un fatto noto a tutti quelli che abitano nei luoghi dove abbondano gli Anofeli e altre zanzare. Quivi per dormire sonni tranquilli occorre al far della sera socchiudere le imposte delle finestre lasciando un sol filo di luce; le zanzare abbandonano la stanza, fatta così oscura, per portarsi fuori all' aperto dove la luce va già declinando. Prima del tramonto questa precauzione non avrebbe avuto alcuna efficacia.

## 2. Anopheles pseudopictus.

Quanto abbiamo sopra detto per l'*Anopheles claviger* vale in complesso anche per l'*A. pseudopictus*, colla sola differenza che lo *pseudopictus* non si stabilisce nelle case, e, per quanto ho veduto, preferisce molto di star riparato nei canneti. Perciò ben difficilmente trova la sua vittima vicina e punge a preferenza al tramonto, o al far del giorno. Ho trovato soltanto qualche *pseudopictus* nelle stalle; nelle case non ne ho mai trovati. Bisogna dunque credere che dopo avere punto ritornino all'aperto in mezzo alle piante. Accade però, come ha notato Ficalbi, che dopo aver succhiato si fermino per una parte o anche forse per tutta la notte sui muri dentro o fuori delle case. Un fatto simile ho sopra accennato per l'*A. claviger*.

## 3. Anopheles bifurcatus.

L'*Anopheles bifurcatus* benchè si sviluppi, come ho detto, per solito nelle fontane, sorgenti, ecc., in generale perciò in piccole superfici d'acqua, è abitatore dei boschi, delle macchie e delle fratte per quanto minuscole; ciò ho verificato nei bo-

schi del Ticino, nella Maremma Toscana, nella Campagna Romana, nelle Paludi Pontine, nella valle dell' Ofanto e del Basento, nel bosco di Policoro, nei dintorni di Sibari, S. Eufemia, ecc.

Quando noi siamo punti dagli Anofeli in un bosco, nella gran maggioranza dei casi si tratta di *A. bifurcatus*. Anche senza prenderli possiamo accertarcene, sia perchè sono in complesso più piccoli (almeno qualcuno si incontra sempre evidentemente più piccolo di qualunque *A. claviger*); sia perchè, una volta appressatisi, pungono molto più rapidamente degli *A. claviger*, riuscendo così più difficile il guardarcene. Essi pungono di giorno, ma più comunemente al tramonto e al levar del sole; in queste ore abbandonano i loro rifugi e vanno in cerca di nutrimento. Di notte possono talora entrare nelle stazioni ferroviarie illuminate e pungere. Anche essi evitano la luce viva del giorno e per non affrontarla, ancorchè digiuni, restano nei loro più o meno oscuri nascondigli; di più siccome abitualmente non si fermano nelle case e nelle stalle, quivi di solito non si è punti lungo il giorno. Nella stazione di S. Eufemia - Biforcazione qualche volta al far del giorno si vede un certo numero di *A. bifurcatus*, che battono contro i vetri delle finestre per uscire fuori; alcuni contengono sangue, altri no. Fu appunto in questa stazione che io ebbi occasione di confermare sull'*Anopheles bifurcatus* un' osservazione del Ficalbi che, cioè, le zanzare qualche volta si poggiano dove c' è gente, come in aspettativa di pungere.

## 4. Anopheles superpictus.

Quanto all'*A. superpictus*, un intelligente impiegato ferroviario, il signor Marcovecchio, ha fatto a Castelnuovo-Vallo delle osservazioni che, se venissero confermate, sarebbero veramente interessantissime. In questa stazione molto malarica gli *A. claviger* sarebbero molto scarsi, mentre senza dubbio gli *A. superpictus* sono relativamente abbondanti. Al tramonto, secondo Marcovecchio, non si farebbero vivi perchè, essenzialmente notturni, pungerebbero soltanto verso le 22-23 ore. A prova di questo fatto Marcovecchio ripetutamente durante l' estate passò la sera nudo sul letto, con due lumi accesi e colle finestre aperte; soltanto alle 22-23 ore fu assalito dagli *A. superpictus* in grande numero. La buona fede e l' intelligenza dell'osservatore ci fanno credere al fatto da lui asserito, nonostante che noi non abbiamo potuto confermarlo alla fine di ottobre, forse per motivo della temperatura troppo bassa.

A Grassano il 22 ottobre all' imboccatura di una delle grotte, di cui ho parlato altrove, verso le ore 16 un *A. superpictus* cercò di pungermi, mentre il sole mi illuminava. Ma forse però questo *superpictus* era stato messo in moto da due individui, che si trovavano nella grotta.

Nell'estesa fattoria che sorge vicino alla stazione di Policoro il 29 sera si verificò con tutta sicurezza che gli *A. superpictus* venivano a pungere al tramonto insieme ai *claviger*; prima che l'oscurità fosse completa scomparvero gli uni e gli altri. Quest'osservazione fu fatta da Noè, che insieme coll' inserviente stava seduto sulla porta di una stalla, dentro la quale si trovava un certo numero di *A. superpictus*.

*
* *

Le notizie qui riferite gettano luce sui costumi degli Anofeli; restano a studiarsi altri punti, alcuni dei quali ho già sopra accennato e altri voglio ora toccare.

Un fatto del quale ho cercato molte volte di rendermi conto è la singolare localizzazione degli Anofeli nei luoghi palustri. Si possono pensare varie spiegazioni. Gli Anofeli non costruiscono la ben nota barchetta dei *Culex* in cui le uova stanno verticali, ma depongono le loro uova galleggianti orizzontalmente; molto facilmente, forse sempre, in natura, esse si sparpagliano. E ciò spiega il fatto che le larve di *Anopheles* si trovano raramente raggruppate in guisa da poterne pigliare molte con un colpo di reticella, come si fa con quelle dei *Culex*.

Lo sparpagliarsi delle uova e quindi delle larve giova, senza dubbio, almeno fino ad un certo punto, a preservarne una parte dai nemici e potrebbe essere il motivo per cui gli Anofeli, a differenza dei *Culex*, prosperano anche in acque ricche di pesci. Ma ciò non può dar ragione della mancanza degli *Anopheles* nelle acque dei luoghi non malarici.

Probabilmente la spiegazione si dovrà trovare nel genere di alimentazione delle larve; fors'anche nella quantità di nutrimento ch'è loro necessaria. Certo è che se si mette in un vaso una buona quantità di larve di *Anopheles*, tutte, o quasi, dopo qualche tempo muoiono; se invece vi si mettono larve di *Culex* molte arrivano a diventare insetto perfetto. Che anche lo strapazzo nel mettervele possa influire è probabile, perchè le larve di *Anopheles* per mancanza del tubetto respiratorio più facilmente vanno soggette ad asfissia ([a]).

Potrebbe anche darsi che gli Anofeli e in genere le zanzare palustri allo stato d'insetto perfetto avessero bisogno di un grado di umidità quale non trovano d'estate nei luoghi non palustri. La circostanza che gli *Anopheles* hanno l'addome dorsalmente e ventralmente bensì peloso e setoloso, ma tuttavia nudo di squamette, appoggerebbe

([a]) Queste osservazioni erano già scritte, quando verificai che le larve di *A. bifurcatus*, come quelle di *Culex*, possono svilupparsi ulteriormente, benchè con molta lentezza, anche tenute in certa quantità dentro un vaso piccolo.

*Aggiunta fatta durante la correzione delle bozze.* — Osservando il movimento degli organi rotatori abbiamo potuto stabilire che mentre i *Culex* si nutrono sempre sott'acqua, gli *Anopheles*, aventi la testa molto meno sviluppata si nutrono soltanto mentre affiorano. Soltanto ciò che sta superficiale può quindi servire alla nutrizione degli *Anopheles*; questo è probabilmente il motivo principale della loro localizzazione palustre, non trovando esser altrove nutrimento sufficiente.

Resta sempre da spiegare perchè sopratutto i *C. pipiens*, animali al periodo larvale molto più robusti degli *Anopheles*, nelle paludi siano scarsi sino a mancare totalmente. Si può supporre che la femmina abbia perduto l'istinto di depositare le uova nelle paludi dove vivono molti animali che danno avidamente la caccia alle larve dei Culicidi.

Del resto è bene fissare che in complesso gli *Anopheles* sono adattati a vivere al pelo dell'acqua, mentre i *Culex* toccano la superficie soltanto per respirare.

Il tubetto respiratorio dei *Culex* per la sua peculiare conformazione rappresenta un notevole perfezionamento che manca agli *Anopheles*. Esso è così fatto che permette loro di respirare anche in acque, la cui superficie è coperta dalla ben nota pellicola, fatta da esseri inferiori.

il mio modo di vedere, se anche nei *Culex* palustri l'addome fosse sfornito di squamette, ciò che in realtà non si verifica.

Certo è che noi per tener vivi i Culicidi a temperatura da 25°-30° c. dobbiamo procurare che l'ambiente sia umido. In complesso sembra anche che gli *Anopheles* alati abbiano bisogno di maggior umidità dei *Culex pipiens*.

Altro argomento molto importante, che ho già precedentemente accennato, è la distanza a cui gli *Anopheles* si spingono e l' influenza del vento sulla loro diffusione. Ho cercato di approfondire l'argomento e posso fornire dei dati che, pur non essendo completi, permettono di formarsi un' idea chiara del fenomeno.

In Lombardia è certo che gli *Anopheles claviger* si spostano poco dal luogo dove son nati, anche in linea orizzontale. Mi pare di esser nel vero asserendo che in linea orizzontale non arrivano ad un chilometro di distanza; e ciò desumo da osservazioni fatte alla periferia della zona irrigata dal canale Villoresi a Lainate e a Cuggiono ([a]). In senso verticale poi, parlo sempre della Lombardia, si estendono pochissimo come dimostrano i seguenti fatti:

I. Le camere dei secondi e dei terzi piani delle fattorie anche in mezzo alle risaie, sono pochissimo invase dagli *Anopheles*.

II. In vicinanza del laghetto di Montorfano ho trovato molti *Anopheles claviger* che mancavano affatto a Montorfano, paesello di pochi metri più alto del lago. Qualcosa di simile si verifica anche nel villaggio di Alserio.

Nell' Italia media e meridionale in rapporto colla temperatura più alta, indiscutibilmente gli *Anopheles* si estendono di più orizzontalmente e anche verticalmente.

Io e il laureando in medicina Ficacci ([b]) abbiamo studiato in particolare Sezze, Sermoneta e Norma che gettano molta luce sopra questo argomento.

Norma, Sermoneta e Sezze sorgono su colline prospicienti le Paludi Pontine. A Norma (altezza 343 m. circa) si dice che non ci sia malaria; a Sermoneta (altezza 257 m. circa) invece ed anche a Sezze (altezza 319 m. circa) la malaria domina, benchè meno intensa che nelle Paludi Pontine, e di solito l' epidemia, a differenza di quanto avviene nella gran maggioranza dei casi, infierisce ad autunno inoltrato. Notoriamente a Sezze e a Sermoneta la malaria colpisce a preferenza le abitazioni più basse, che sono quelle che guardano le Paludi Pontine, sebbene non risparmi neppure le altre parti. Nel corrente anno la malaria che prima si era fatta poco sentire, diventò violenta verso il 20 ottobre e infierì per tutto il novembre tanto a Sezze che a Sermoneta, non risparmiando neppure Norma.

A Sezze e a Sermoneta ([c]), in principio di settembre gli *Anopheles* maschi e femmine non erano rari nelle case più malariche, cioè più basse e guardanti le Paludi Pontine; qualcuno se ne trovava anche nelle altre abitazioni di questi paesi, specialmente a Sezze dove qualcuno di più si vedeva nelle capanne vicine alle Fontane, e non mancavano perfino nelle case della parte più alta. Nello stesso tempo a

([a]) I dati di Ambrosi e Riva, secondo i quali la malaria si estenderebbe nella provincia di Parma fino a 4-5 km., devono essere riveduti alla luce dei nuovi fatti.

([b]) Mi limito a brevissimi cenni lasciando a Ficacci la cura di fare una pubblicazione estesa che riescirà certamente di molto interesse.

([c]) In un sottoscala di Sermoneta trovai parecchi *A. bifurcatus*.

Norma, fabbricata sulla cima di una rupe che sale a picco diritta come una muraglia, gli *Anopheles* erano scarsissimi tanto che vi ho trovato soltanto due femmine in un porcile.

Le cose apparvero mutate durante l'epidemia autunnale suddetta. In questo tempo gli *Anopheles* si riscontrarono molto abbondanti a Sezze sopratutto nella parte prospiciente le paludi. Verso la metà di dicembre, ad epidemia finita, gli *Anopheles* erano ancora abbondanti, ma stavano quasi tutti ritirati in luoghi oscuri (sottoscala, sotterranei, stalle: nella sacrestia della Cattedrale si trovavano in numero stragrande). Come precedentemente, nella parte del paese che guarda i monti, gli Anofeli erano in molto minore quantità che nella parte prospiciente la palude. Eccezionalmente, nell'Ospedale, che sorge sopra un'altura fuori della città, a mezzogiorno delle capanne suddette, si rinvennero molti Anofeli dentro i locali a pian terreno o alcuni anche nelle corsie. Probabilmente qui s'erano rifugiati per invernare, non convenendo loro le capanne a motivo del fumo, che vi si fa incessantemente.

Nello stesso tempo, cioè verso la metà di dicembre, venne da noi visitata anche Norma. Nella parte che guarda i monti si è rinvenuto un solo *A. claviger*, invece nella parte che guarda la palude non scarseggiavano gli Anofeli in ibernazione, in qualche luogo erano anzi molto abbondanti.

Si domanda ora dove abbiano origine gli *Anopheles* dei suddetti villaggi. Sezze possiede focolai di *Anopheles claviger* e *bifurcatus* per proprio conto ([a]); ma questi focolai non sembrano bastevoli a spiegare la malaria di Sezze, perchè le parti più vicine a questi focolai sono evidentemente molto meno colpite dalla malaria che non le case prospicienti le Paludi Pontine. Ciò obbliga a ritenere che gli *Anopheles* di Sezze nascano in molta parte in acque paludose della pianura sottostante.

Studiando le condizioni locali di Sermoneta, si acquista la convinzione che gli Anofeli nascono in gran parte nelle acque paludose immediatamente sottostanti (molte larve si trovano anche nell'acqua sulfurea che si raccoglie all'altezza di circa 16 m. sul livello del mare al piede di Sermoneta). Infatti a Sermoneta non vi sono acque capaci di dar luogo allo sviluppo degli Anofeli: soltanto negli orti si trovano alcune piccole vasche in muratura (quattro circa) che di regola asciugano molto presto. (Eccezionalmente quest'anno quando io le visitai il 6 settembre, contenevano ancora un po' d'acqua e in una trovai, oltre a molte larve di *Culex*, anche una larva di *Anopheles*).

D'altra parte che gli Anofeli provengano dalle paludi si rileva dalla circostanza che chi monta direttamente dalle acque sulfuree al paese di Sermoneta, cioè seguendo la stradicciuola ripida, trova dappertutto qualche *Anopheles claviger*, specialmente se cerca nei ruderi delle due chiesette, che incontra cammin facendo, nelle capanne che stanno poco discoste dalla stradicciuola, ecc.

Infine *è assolutamente indiscutibile che gli Anofeli che si trovano a Norma nascono a Ninfa* (*altezza 21 m.*). A Norma non c'è acqua dove possano svilupparsi.

([a]) La parte nord e nord-est della campagna Setina è ricca di polle d'acqua, la quale spargendosi pei fossi ristagna e forma così numerosi focolai di malaria. Ficacci (al quale debbo i qui riferiti particolari riguardanti Sezze) ha trovato anche sorgenti avventizie di Anofeli (p. es. una botte contenente acqua da pozzo nel giardino della Cattedrale).

È dunque un fatto dimostrato che gli *Anopheles* possono sollevarsi ad altezze superiori ai 300 m. Si deve ammettere che rimontino a tappe seguendo le numerose carovane che ogni giorno al tramonto ascendono ai suddetti paesi. Per persuadersi di questo fatto, basta interrogare un vetturale qualunque che soglia far la strada dalla stazione al paese di Sezze.

Come ciò non accada in molte altre località si può spiegare specialmente colla circostanza che gli Anofeli nelle Paludi Pontine, essendo molto abbondanti e trovando poco cibo, si adattano a migrazioni insolite. Io ho notato che dovunque gli Anofeli sono in quantità, mentre scarseggia il nutrimento, si comportano, dirò così, più audacemente che quando sono pochi e trovano facilmente nutrimento. In una casetta vicina ai laghetti di Calciano (valle del Basento) gli Anofeli, che erano in coorti sterminate e tutti senza sangue, mi assalirono tanto da essere obbligato a ritirarmi, non ostante che io facessi molto fumo. Così quando gli Anofeli sono molto numerosi, nonostante che si brucino i zampironi, se ne trova spesso qualcheduno pronto a pungerci.

Singolare resta però sempre la tardiva comparsa in abbondanza degli *Anopheles claviger* a Sezze, a Norma e probabilmente anche a Sermoneta ([a]). Sembra che essi non trovando sufficienti locali opportuni per svernare al piano, cerchino rifugio nei centri popolati della montagna ([b]). Sul fenomeno però può influire lo spopolamento che si verifica al piano stesso in ottobre.

Torna qui fuori la questione dei venti; se siano, cioè, capaci di diffondere gli *Anopheles*. A Sezze lo studente Ficacci molte volte al tramonto si portò sulla terrazza prospiciente le Paludi Pontine; gli Anofeli non vennero mai a pungerlo, ancorchè il vento spirasse dalla direzione di queste.

Se di giorno vediamo un *Anopheles claviger* o *superpictus* poggiato sopra una ragnatela in una stalla, od altro ambiente chiuso, possiamo facilmente sperimentare che un piccolo movimento d' aria prodotto, per esempio, agitando leggermente il cappello, fa dondolare la ragnatela senza che l' Anofele si sposti. Se si agita il cappello un po' più fortemente, esso prende il volo, fermandosi subito appena trova un luogo opportuno, che può essere a pochi decimetri di distanza, dove il movimento dell' aria non si faccia sentire.

Supponiamo di trovarci in una stalla piccola, infestata di Anofeli, con una porta e una finestra, chiuse l' una e l' altra. Apriamole; si forma così una corrente d'aria piuttosto forte in direzione dalla porta alla finestra. Questa corrente può avere per effetto l' uscita degli Anofeli dalla finestra anche di pieno giorno.

A Porto vi è una capanna dentro la quale si rifugiano a migliaia gli *Anopheles claviger* neonati; se tira vento in parte si nascondono nel fieno, ma in grandissima parte si allontanano dalla capanna.

Questi fatti inducono a ritenere che il vento forte, che spira in una determinata direzione, debba trasportare a poco a poco in questa direzione gli *Anopheles*. Ficalbi mi ha raccontato che ripetutamente ha trovato a Cervia dopo una giornata di vento

([a]) Coincide naturalmente coll'andamento dell'epidemia malarica.

([b]) In complesso questi luoghi dove si riparano per l' invernamento sono esposti a mezzogiorno.

i *Culex penicillaris*, mentre prima non era possibile rinvenirveli. Molti altri mi hanno narrato dei fatti che proverebbero l' influenza del vento sul trasporto delle zanzare. Questi fatti sono indiscutibili, ma il loro apprezzamento non è facile. Citerò un caso speciale. Tutti quelli che abitano in luoghi infestati dalle zanzare assicurano che, quando spira scirocco, esse sono molto più numerose; questa notizia così riferita farebbe credere che lo scirocco le trasportasse veramente. Ma se andiamo a fondo della cosa, apprendiamo, da quelli stessi che ci hanno fornita l' informazione, come quando parlano di scirocco che spira e rende più tormentose le zanzare, intendano quello scirocco che si fa sentire soltanto per la sua umidità, per il suo calore, per il cielo annuvolato e per gli acquazzoni che si succedono, non già lo scirocco accompagnato da forti movimenti dell' aria (vento). In quest' ultimo caso le zanzare, essi stessi ce lo assicurano, non si fanno vive, se non a chi si chiude in casa.

In breve, sta il fatto incontrovertibile che quando l' aria è calda e umida e il cielo è annuvolato, le zanzare pungono di più: le suddette condizioni dell' ambiente sono dunque favorevoli alle zanzare, le quali ne profittano per mettersi in movimento e procurarsi il cibo; tutto ciò non implica affatto che il vento sciroccale trasporti le zanzare come ritiene il volgo.

Io voleva segnare migliaia di *Anopheles* per es. con un pennello a vernice bianca sul torace o con polvere di magnesia, lasciarle libere e poi cercarle in differenti località per determinare come e quanto si allontanavano; purtroppo me ne è mancato il tempo.

Altro fatto interessante (di cui ho già sopra fatto cenno, pag. 92) è l' abitudine degli Anofeli di seguir l' uomo nelle sue peregrinazioni. Io ho osservato questo fenomeno per la prima volta nella Campagna Romana; successivamente mi persuasi che senza dubbio esso è generale.

Nella Campagna Romana durante l' epoca della mietitura e dell' aja (*ara*, come si dice a Roma), i contadini sogliono improvvisare delle capanne che servono loro di abitazione. In queste capanne nei primi giorni non si trovano *Anopheles*: nei giorni successivi cominciano a comparire e vanno diventando sempre più abbondanti. Questo fatto venne da me ripetutamente verificato e mi fece particolarmente impressione all' ara di Malegrotte, dove le capanne sono costruite in un posto di qualche metro più alto dell'ara stessa; per i primi quattro giorni non è stato proprio possibile di trovarvi alcun Anofele, tanto che a tutta prima ritenni che gli *Anopheles* non potessero sollevarsi all' altezza delle capanne.

Un' ultima questione importante riguarda gli ostacoli che possono frapporsi all' allontanarsi degli Anofeli dal luogo dove si sono sviluppati. La pianura senza alberi, o pochissimo alberata, favorisce le loro migrazioni; le ostacolano invece i boschi, gli abitati, ecc. Anche questi fatti si connettono con quistioni state già a lungo discusse, specialmente a Roma, nel secolo scorso da Lancisi e nel nostro secolo da Tommasi-Crudeli. Ammettevano taluni che i boschi filtrassero i germi malarici in modo che l' aria attraversando un bosco ne uscirebbe purificata; altri invece negavano qualsiasi influenza ai boschi. Basta collegare siffatte quistioni colla storia naturale degli Anofeli per persuadersi facilmente che esse non possono venir risolte in modo assoluto in un senso piuttosto che in un altro, entrando in giuoco molte circostanze, che modificano il giudizio nei singoli casi.

A Maccarese ho potuto osservare che, mentre gli *Anopheles claviger* abbondano al Procojo d'inverno delle Buffale e alla Torre, non si trovano invece nelle capanne dei pescatori, vicine molto alla spiaggia del mare; tra queste due località s' interpone una macchia abbastanza fitta per l' estensione di forse 100 metri. Tale fatto sarebbe molto provativo se non ci fosse nota la circostanza che gli *Anopheles* in generale evitano la spiaggia (forse perchè l' aria è quivi spesse volte in movimento). Questa circostanza vuolsi mettere in rapporto colla opinione popolare che la spiaggia del mare anche nei luoghi molto malarici sia generalmente quasi salubre e che il dormire su barche in mare, anche a piccola distanza dalla spiaggia, riesca quasi sufficiente per preservarsi dalla malaria.

D' altra parte è certo:

1) che nella parte periferica dei boschi possono ricoverarsi gli *A. claviger*;

2) che questa parte forma l' abitazione prediletta degli *A. bifurcatus*;

3) che i boschi possono impedire il disseccamento di acque opportunissime per lo sviluppo degli Anofeli;

4) che la trasformazione di un bosco in una campagna coltivata richiede spesse volte di necessità un più igienico regime delle acque; ciò spiega in molti casi la diminuzione della malaria in seguito al diboscamento ecc. ecc.

Le case costituiscono una barriera ben più sicura in quanto che gli *Anopheles* vi trovano nutrimento e quindi vi si fermano. Con ciò si spiega facilmente il caso di un piccolo focolaio malarico presso Sinigallia, illustrato da Marchiafava e Spadoni (« Presso Sinigallia vi è un canale tra il fiume Mesa e il mare; ristagnandovi l'acqua, sino a poco tempo fa era fomite d' infezione malarica. Gli abitanti delle case più vicine e più specialmente delle case con le porte e le finestre che danno su questo canale ammalavano d' infezione malarica, mentre quelli delle case un po' più discoste erano immuni ») (5).

Ciò che ho esposto riguardo agli Anofeli può trovare più o meno esatto riscontro nelle varie specie del genere *Culex*.

È importante a notare il fatto che anche la maggior parte dei *Culex* non vive quasi mai nelle case: eccezionalmente una volta vi ho trovato una certa quantità di *Culex penicillaris* ([a]): anche il *Culex malariae* vi fu rinvenuto una volta, ma in piccolo numero. Invece le specie di *Culex* che si trovano di solito nelle case sono le seguenti: *Culex pipiens, Richiardii, spathipalpis, annulatus.* Ficalbi vi ha trovato anche il *Culex elegans.* Koch dice di avervi trovato nei primi mesi della stagione calda piuttosto frequente il *Culex nemorosus;* probabilmente egli ha classificato come *C. nemorosus*, il *C. spathipalpis* ovvero il *C. annulatus* ([b]).

([a]) Eccezionalmente anche Noè li ha trovati numerosissimi nelle stalle di Locate Triulzi.

([b]) Ritengo che Koch si sia ingannato nel fare la diagnosi della specie, per due motivi:

I. Egli avrebbe trovato il *Culex nemorosus* molto comune nelle case al principio dell'estate, e ciò è in contrasto con quanto ho osservato io, che dopo averlo cercato invano lunghissimo tempo l'ho rinvenuto soltanto ibernante nelle case, due volte, un esemplare per volta, e con quanto ha visto Ficalbi il quale asserisce di non aver mai constatato che s'introduca nelle case.

II. Egli avrebbe fatto sviluppare l'*Haemamoeba* degli uccelli nel settembre del 1898 in larve di un *Culex* da lui definito *nemorosus*, raccolte in una vasca dell' Istituto di Sanità dello Stato a

Ficalbi ha notato che il *C. elegans* anche di sesso maschile, succhia sangue, ma negli altri Culicidi non abbiamo mai riscontrato niente di simile.

Riguardo al nutrirsi dei *Culex* è d'uopo notare che essi digeriscono più lentamente degli *Anopheles;* evidentemente d'estate la digestione dura da 12 a 24 ore di più. Il *Culex pipiens* (sugli altri non ho potuto fare osservazioni) non è così parco come in generale l'*Anopheles*: esso piglia nuovo sangue ancorchè non abbia ancor finito di digerire quello precedentemente succhiato; appunto perciò esso riesce molto più tormentoso dell'*Anopheles*.

A molti il *pipiens* reca gran noia per il rumore che fa; certamente gli *Anopheles* non fanno rumore, però eccezionalmente anch'essi si annunciano con quel suono caratteristico che ha fatto dare il nome onomatopeico di *pipiens* ai *Culex*.

---

CAPITOLO VI.

# Parte sperimentale.

## 1. Esperimenti dimostranti che le varie specie di Anopheles propagano la malaria dell'uomo.

Con Bignami e Bastianelli ho dimostrato sperimentalmente che l'*A. claviger* è atto a propagare la malaria umana; gli esperimenti furono fatti o ripetuti le cento volte da ognuno di noi. È un fatto degno di nota che essi non riescono tutti positivi; ciò si spiega facilmente quando si tengano presenti due condizioni:

1°. Vi sono individui i quali benchè abbiano i gameti nel sangue, pure non si prestano per infettare gli *Anopheles*; come dico altrove, alle volte questi gameti sono troppo giovani, più di spesso sembrano invecchiati e impotenti a funzionare, ovvero *forse* sono già avviati alla partenogenesi per la recidiva. (Vedi il Capitolo successivo).

---

S. Eusebio in Roma, mentre nei dintorni di S. Eusebio nessuno ha mai trovato il *Culex nemorosus*.

Se veramente invece di *C. nemorosus* si trattasse di uno degli altri due *Culex* che si introducono facilmente nelle case a Grosseto (*C. annulatus* e *C. spathipalpis*) si dovrebbe ammettere, che la malaria degli uccelli venisse propagata anche da una zanzara colle ali macchiate (pag. 13). Aggiungasi che io ho trovato nelle ghiandole salivali di un *C. annulatus* quei corpi molto simili agli sporozoiti sulla natura dei quali esistono ancora dei dubbî (pag. 196).

Recentemente Testi (51) assistente onorario del prof. Gosio, ha espresso il dubbio che Koch abbia confuso il *C. nemorosus* col *C. pipiens*. In tal caso, evidentemente, queste ultime osservazioni non avrebbero più ragione di essere.

2°. Vi sono *Anopheles* che non s'infettano; essi possono godere di un' immunità congenita, come si dimostra adoperando *Anopheles* neonati e facendoli pungere parecchie volte prima di sezionarli. In tal caso si dovrebbero trovare i parassiti in varî stadî di sviluppo corrispondenti ai varî giorni in cui è avvenuta la nutrizione dell' *Anopheles*, invece se questo è immune, non si trova traccia dei parassiti. Nel fare questi esperimenti occorre però approfittare del caso di un malato con molti gameti, che persistono a svilupparsi per tutti gli 8-12 giorni che dura l' esperimento. Perciò prima di conchiudere che gli *Anopheles* siano immuni occorrerà essere sicuri che i gameti da loro succhiati fossero attivi; questa sicurezza risulta facilmente quando gli esperimenti non si limitino a un numero troppo piccolo di *Anopheles* ([a]).

La convinzione che certi *Anopheles* sono immuni io l' ho acquistata soprattutto in un caso in cui il numero delle semilune era enorme. Di 5 *Anopheles*, per citare un esempio, che punsero in una mezz' ora questo paziente, 2 s' infettarono enormemente, 3 non s' infettarono affatto. Sezionando molti altri *Anopheles*, che avevano punto quest' individuo da 24 ore, ho potuto determinare che parecchi dopo 24 ore stavano digerendo le semilune le quali perciò apparivano in via di disgregazione; la maggior parte invece presentavano un enorme numero di vermicoli.

([a]) *Aggiunta durante la correzione delle bozze di stampa.* — Ross, nel suo *Report* (46) 1900 (pag. 29-30) colla sua solita deplorevole inesattezza, mi fa dire che il non riuscire degli esperimenti quando sono presenti i gameti è dovuto all'immunità. « Questa, dice Ross, non può essere la vera causa, o almeno tutta la causa, perchè alle volte accadde negli esperimenti fatti in India che di una grande quantità di *Culex fatigans* (*pipiens*) nutriti su uccelli coll'*H. relicta*, quasi ogni insetto fosse infetto ».

Ross, dopo aver riferito un caso di diciotto *Anopheles* allevati artificialmente, che avendo punto individui semilunari (semilune scarse) e quartanari, diedero tutti resultato negativo, fa osservare che il 25 % degli *Anopheles* della stessa specie presi in libertà, contenevano parassiti, e ritiene perciò poco verosimile che tutti i suddetti diciotto individui fossero immuni.

« È più probabile » soggiunge, « che sia stata tralasciata negli esperimenti qualche cosa che è presente nelle condizioni naturali e che è essenziale per la coltivazione dei parassiti. Che cosa sia non possiamo dirlo con certezza, ma è degno di nota che tutti i nostri esperimenti positivi in India, senza eccezione, erano stati fatti con insetti nutriti in zanzariere in presenza dei maschi, mentre gli esperimenti negativi, colle varie specie di *Anopheles* nutriti di sangue umano, erano stati fatti con femmine isolate e perciò non fecondate. L'importanza della fecondazione si può spiegare colla circostanza che il sangue è necessario per la maturazione delle uova. Se le uova non sono state fecondate, il sangue non può essere molto necessario all'insetto e possibilmente viene evacuato senza alcun processo digestivo che è forse necessario per la vitalità degli zigoti.

Gli esperimenti in India hanno mostrato considerevoli variazioni nel numero degli zigoti trovati nelle zanzare nutrite anche contemporaneamente sullo stesso malato. Questa variazione potrebbe dipendere dalla quantità di sangue succhiata da differenti individui, e anche probabilmente dalle differenze di qualità dei loro succhi digerenti; ma nel medesimo tempo è stato dimostrato che pochi individui di una specie adatta sfuggono interamente all'infezione se nutriti in modo opportuno ».

Leggasi invece quanto ho scritto io nella critica alle conclusioni di Koch (20) pubblicata nell'ottobre 1899:

« Quanto alle prove negative avute da Koch facendo pungere da Anofeli un uomo infetto, non mi fanno alcuna meraviglia, perchè molte volte mi è capitata la stessa cosa, e ciò ho attribuito

In conclusione, non ostante le sopraesposte difficoltà, con un po' d'insistenza gli esperimenti colla terzana e colla bidua riescono facilmente.

Non si può dire lo stesso per la quartana. Molte circostanze facevano ritenere che anche il parassita della quartana dovesse svilupparsi nell'*A. claviger*. I risultati però erano sempre stati negativi, ciò che si spiegava colla scarsezza dei gameti.

Finalmente tra cinque *A. claviger* nutritisi sopra una quartanaria (donna affetta da quartana da diciotto mesi e presentante nel sangue un enorme numero di parassiti tra cui rarissimi gameti) uno mi ha presentato due amfionti (oocisti) aventi il pigmento caratteristico del parassita quartanario. Questi amfionti erano arretrati nello sviluppo più di quanto si sarebbe aspettato, e infatti essi erano provenienti da sangue succhiato da tre giorni e avevano dimensioni corrispondenti presso a poco a quelle delle oocisti di due giorni provenienti da semilune.

Il reperto sopra riportato, benchè unico, venne da me, da Bignami e da Bastianelli ritenuto positivo perchè l'*A. claviger* suddetto da circa un mese si trovava in laboratorio e non aveva mai succhiato altro che sangue di individui sani: anche il sangue della donna stato a lungo da me esaminato, una volta anche in presenza del dott. Bastianelli, aveva confermato la diagnosi, già evidente in base al decorso della febbre, di quartana classica e pura.

Durante il luglio e l'agosto ebbi occasione di ripetere la prova sopra un quartanario antico ottenendo risultati positivi, anche con *A. claviger* nati in laboratorio. Altre prove positive ottennero poi per proprio conto Bignami e Bastianelli.

La scoperta che gli *Anopheles* propagano anche la quartana venne recentemente confermata da Ross, senza citare le nostre precedenti pubblicazioni.

Una volta dimostrato che l'*A. claviger* propaga le varie specie di parassiti malarici dell'uomo, anche gli altri *Anopheles*, per ragioni epidemiologiche, dovevano ri-

---

ora agli Anofeli, ora alla condizione delle semilune. Si noti però, perchè non nasca equivoco, che, del pari, molte volte ho trovato dei semilunari che per molti giorni di seguito infettavano il 90 % degli Anofeli. I suddetti casi negativi, del resto, sono ben noti anche per le altre malattie parassitarie ».

L'opinione di Ross che l'*Anopheles* non fecondato evacui il sangue senza digerirlo è assolutamente infondata. Ricordo dei casi in cui si infettarono anche gli *Anopheles* non fecondati, ma purtroppo non sono segnati nei miei libretti di note, e perciò ripeterò l'esperienza a tempo opportuno.

In breve, anche dopo la pubblicazione di Ross, non ho niente da mutare a quanto ho esposto nel testo.

— Laveran, basandosi appunto sulle ricerche di Ross in Africa, conchiude (52): « D'autre part, on n'est pas encore fixé sur la façon dont l'hématozoaire du paludisme est transmis aux *anopheles* et de ces parasites à l'homme.

« Si l'on a reussi, dans quelques cas, à infecter des *anopheles* en leur faisant sucer du sang de sujets atteints de fièvre palustre, il faut bien reconnaître que les résultats de ces expériences ont été le plus souvent négatifs.

« Les *anopheles* s'infectent peut-être en suçant le sang des animaux, car on a trouvé, notamment chez le singe et chez le chauve-souris, des hématozoaires voisins de celui du paludisme.

« Peut-être existe-t-il une forme resistente des germes du paludisme, qui se conserve dans l'eau ou dans le sol des localités palustres et qui provoque, au retour des chaleurs de l'été, l'infection de l'homme ou des *anopheles* » (!).

tenersi sospetti. Siccome sapevo procurarmeli, diventava relativamente facile metterli alla prova adoperando come termine di paragone l'*A. claviger*.

Nel gennaio scorso mi recai perciò in Basilicata e precisamente a Grassano dove in una grotta raccolsi un *A. superpictus*; pur troppo non mi fu dato usufruirlo; ma dopo varî tentativi ho potuto procurarmene altri cinque. Evidentemente da tempo non avevano succhiato sangue, tanto che facilmente s'attaccarono (il 27 gennaio nel luogo stesso dove furono trovati) ad un uomo, che qualche giorno prima aveva avuto febbre, supposta malarica. Tre morirono nelle prime 24 ore; un quarto morì il 2 febbraio senza aver voluto altra volta nutrirsi; tutti e quattro all'esame microscopico diedero risultato negativo. Il quinto invece, da cui Bignami e Bastianelli avevano fatto pungere il 29 e il 31 gennaio nell'Ospedale di S. Spirito un individuo infetto di semilune, aveva nelle pareti dell'intestino i soliti amfionti in via di sviluppo e precisamente in numero di tre, uno più piccolo e due più grandi; il primo derivato probabilmente dalla puntura del 31 e gli altri due da quella del 29. Gli *A. claviger*, tenuti per controllo nelle stesse condizioni di nutrizione e di temperatura, diedero tutti reperto positivo, meno due. In essi il numero degli amfionti era però molto maggiore, il che può attribuirsi al fatto che gli *A. claviger*, essendo più grandi, possono succhiare una maggior quantità di sangue.

Nei mesi di luglio e di agosto, l'impiegato ferroviario Marcovecchio mi portò ripetutamente da Castelnuovo Vallo altri *A. superpictus*, sui quali sperimentai, con risultato positivo, sia per la terzana, sia per le semilune.

I primi esperimenti sugli *A. bifurcatus* richiesero maggior fatica, per la difficoltà di procurarsi il materiale, essendo la stagione inopportuna; anche quei pochissimi che si potevano avere, morivano per lo più senza voler pungere. Vidi così con dolore andar perduto un materiale raccolto con gran pena, finchè nella stalla dei bovini annessa al Chiostro delle Tre Fontane trovai gli *A. bifurcatus* in una certa quantità; dopo altri vani tentativi finalmente raggiunsi lo scopo. Gl'individui che furono adoperati tendevano alla varietà *nigripes*. Bignami e Bastianelli curarono che pungessero un individuo semilunare e parecchi terzanarî; e tanto per l'infezione semilunare, quanto per l'infezione terzanaria, abbiamo ottenuti risultati positivi: i varî stadî di sviluppo, osservati nelle pareti dell'intestino degli *A. bifurcatus*, corrispondevano perfettamente a quelli che si riscontravano negli *A. claviger*, tenuti nelle stesse condizioni.

Bisognava sperimentare anche coll'*A. bifurcatus* tipico; ciò che ho fatto io nella villetta del Principe di Maccarese, sia per la terzana sia per le semilune, come risulta dai quadri sopra riportati.

Restava a provare l'*A. pseudopictus*. Dopo vani tentativi, fatti coi colleghi suddetti, mi decisi a portare un ammalato in buone condizioni in una località dove c'erano molti *Anopheles* di questa specie e precisamente a Chiarone, sul confine della Maremma Toscana colla Campagna Romana.

L'ammalato, infetto di gameti terzanarî e semilunari, venne punto, alla sera del primo giorno, da un *A. pseudopictus*, che si infettò. Una ventina degli stessi *Anopheles pseudopictus* vennero portati a Roma: purtroppo circa dieci morirono per istrada e non poterono essere esaminati. I dieci rimanenti, al mattino seguente, si

sperimentarono sullo stesso individuo; di cinque che punsero, quattro s'infettarono e uno no; invece non presentarono traccie d'infezione gli altri cinque, che, ripeto, erano stati presi contemporaneamente nella stessa località e non avevano punto. Successivamente ho potuto sperimentare anche con tre *A. pseudopictus* nati in Laboratorio: due con risultato positivo e uno con risultato negativo.

Resta perciò dimostrato *che tutte le specie italiane del genere Anopheles possono propagare le varie specie di parassiti malarici umani.* È ben lecito indurne che ciò si verificherà anche per le altre specie di *Anopheles* che si trovano nei varî continenti.

Il genere *Megarhina*, essendo affine al genere *Anopheles*, resta molto sospetto.

## 2. Esperimenti dimostranti che i Culex, i Centrotypus, i Phlebotomus ecc. non propagano la malaria umana.

Come ci insegna la pratica fatta cogli *Anopheles*, per determinare se altre specie di zanzare siano atte a propagare la malaria umana, basta far che esse pungano un uomo, il cui sangue contenga gameti capaci di svilupparsi.

Benchè già nel capitolo che tratta dei metodi di indagine, siano state riferite le norme principali, non riuscirà qui del tutto inutile l'insistere ancora sopra di esse.

Le zanzare, che hanno punto, si tengono a temperatura di 25°-30°, fino a che abbiano completata la digestione (da 40 a 72 ore), cioè fino che non trasparisca più dall'addome alcuna traccia di sangue. Si passa allora all'esame della zanzara stessa per ricercare i parassiti giovani nello spessore della parete intestinale. Basta a questo scopo isolare l'intestino in una soluzione di formalina, distenderlo su un vetrino porta-oggetti ed esaminarlo con un buon obbiettivo a secco (p. es. Kor. N. 8). Ove sorga qualche dubbio, si fa uso di una lente ad immersione. I parassiti si distinguono facilmente alla superficie esterna dell'intestino tra le fibre muscolari; il loro pigmento permette di riconoscerli con facilità.

Questo semplice modo di sperimentare conduce ad una conclusione sicura. È però necessario attenerci alle seguenti cautele:

1°. Non sperimentare con un solo individuo di una specie, ma con un certo numero, potendo accadere per avventura che i primi individui, con cui si esperimenta, siano immuni.

2°. Sperimentare contemporaneamente con alcuni *Anopheles*, per assicurarsi che il malarico è in buone condizioni per infettare gli insetti.

3°. Accertare che la grandezza dei parassiti, che si riscontrano, è proporzionale al tempo che hanno vissuto nell'intestino ad una certa temperatura.

### A). Esperimenti col *Culex pipiens*.

Il giorno 18 [a] giugno un vecchio con gameti terzanari ed estivo-autunnali, fu punto da 2 *C. pipiens*, 3 *A. bifurcatus* e 2 *A. claviger* nella villetta del Principe

[a] Nella Nota (20) si legge erroneamente 16 invece di 18 giugno.

a Maccarese; gli *Anopheles* d'ambo le forme s'infettarono tutti, eccetto un *bifurcatus;* i 2 *C. pipiens* invece non s'infettarono. Lo stesso individuo il 20 giugno a Chiarone, fu punto da 20 *C. pipiens*, da 1 *A. pseudopictus* e da 5 *A. claviger*; tutti gli *Anopheles* s'infettarono eccetto uno degli ultimi cinque; nessun *C. pipiens* s'infettò. In varie altre occasioni ho sperimentato con risultati negativi su qualche *C. pipiens.*

A Grosseto ho fatto le seguenti altre prove con due malarici presi all'ospedale e con due altri da me portati da Roma, tutti e quattro aventi nel sangue i gameti semilunari.

Mi son fatto cedere temporaneamente una camera di un dormitorio delle ferrovie, ove erano dei *Culex pipiens.* In questa camera dormivano i malarici suddetti e tutti i *C. pipiens*, che venivano a pungerli, erano catturati da tre miei impiegati, che vegliavano a turno. Siccome di *C. pipiens* nella camera ve ne era un limitato numero e d'altra parte (essendo bassa la temperatura esterna) non si potevano tenere aperte le finestre per attirarne, così ogni giorno si apriva in essa un vaso di *C. pipiens* presi a preferenza nelle abitazioni, od in qualche cloaca (in quest'ultimo caso perciò presumibilmente neonati). Contemporaneamente gli ammalati suddetti si facevano pungere da *A. claviger* presi in una capanna vicina al deposito dei cavalli. Questi Anofeli in gran parte erano colle ovaie molto arretrate nello sviluppo, probabilmente neonati, e senza sangue; ne avevo esaminati una quarantina in varie riprese senza trovare i parassiti malarici nel loro intestino.

Non ostante che la temperatura della camera non scendesse al disotto dei 22-23°, Anofeli e *C. pipiens*, subito dopo la puntura, venivano posti in vasetti, che si tenevano caldi, aiutandosi col calore naturale del corpo. Al mattino successivo i vasetti venivano portati in una camera dell'ospedale, nella quale la temperatura oscillava fra i 26° e i 31°. Si noti che i *C. pipiens*, come gli altri *Culex*, digeriscono più lentamente che gli Anofeli. Questi infatti eran vuoti dopo 40 ore, mentre i *Culex* non si vuotavano che al terzo giorno, e allora si esaminavano. Occorreva, al secondo giorno, cambiare il vasetto ai *Culex*, altrimenti morivano tutti. Procedendo in questo modo, il giorno 28 settembre potei esaminare 9 *C. pipiens* ed 1 *A. claviger.* Questo era leggermente infetto, mentre non lo erano i *C. pipiens.* Il giorno 29 esaminai 7 *C. pipiens* e 3 *A. claviger*: dei 7 *C. pipiens* nessuno era infetto, dei 3 *Anofeles* 2 erano infetti leggermente ed 1 no. Il giorno 30 esaminai 16 *C. pipiens*, nessuno era infetto; 8 *A. claviger*, 2 molto infetti e 6 no. Il giorno 1 ottobre, 15 *C. pipiens* non infetti, 8 *A. claviger* di cui 2 infetti e 6 no. Il giorno 2, 13 *C. pipiens* non infetti, e 4 *A. claviger*, 1 infetto e 3 no. Il giorno 4, 39 *C. pipiens* non infetti di fronte a 7 *A. claviger* di cui 2 infetti e 5 no. Il giorno 5 ottobre, 20 *C. pipiens* non infetti di fronte a 9 *A. claviger* di cui 2 infetti e 7 no. Gli *A. claviger* infetti erano tutti in quegli stadî di sviluppo che sappiamo corrispondenti al numero delle ore trascorse dopo la loro infezione.

Mi occorsero poi due fatti apparentemente opposti a questi riferiti. In un *C. pipiens* che aveva punto sotto gli alberi della Stazione uno dei nostri malarici, io ho trovato lungo l'intestino un certo numero di parassiti che si potevano riferire al quarto o quinto giorno ed un parassita relativamente piccolo scambiabile con quelli che

ho ritrovato negli *Anopheles*. Evidentemente, come risulta anche meglio da quanto dirò in appresso, questo *C. pipiens* aveva punto dei passeri e si era infettato di *Haemamoeba*: la forma piccola od era arretrata nello sviluppo, ciò che ho verificato anche in altri casi, ovvero si era sviluppata in seguito ad ulteriore puntura d'uccello. Notisi a questo riguardo che il *C. pipiens* non è parco come in generale l'*Anopheles*: esso piglia nuovo sangue ancorchè non abbia ancor finito di digerire il precedente. Questa circostanza può spiegare la presenza del parassita piccolo di cui sopra.

Un ragazzino le cui semilune presentavano pigmento sparso e non si flagellavano mai, non infettò mai alcun *A. claviger* nè alcun *C. pipiens*. Perciò non ne tenni calcolo nelle sopra esposte cifre. Soltanto l'ultimo giorno trovai un *A. claviger* infetto in stadî corrispondenti al quarto giorno a 30°; evidentemente questo Anofele era già infetto quando punse il ragazzino.

Chi non ha pratica di queste ricerche, potrebbe meravigliarsi che io non abbia trovato infetti un certo numero di Anofeli; la cosa però a me è già occorsa molte volte. Nel caso attuale è notevole che gli Anofeli, ancorchè vuoti, non volevano succhiare ed alle volte occorrevano delle ore per costringerli a nutrirsi un pochino, applicandoli sulla pelle con una provetta. (Vedi del resto pag. 96).

Comunque sia, i fatti qui riferiti dimostrano ad evidenza che il *C. pipiens* non si infetta coi parassiti malarici dell'uomo.

A complemento di quanto sopra ho esposto debbo aggiungere che il *Culex pipiens* s'infetta molto facilmente con una sorta di parassiti malarici degli uccelli (*Haemamoeba relicta*, Grassi e Feletti 1890). Come io ho dimostrato e come posso oggi riconfermare anche in base all'esame dell'apparato ungueale (nuovo ed importante criterio diagnostico stabilito da Ficalbi), il *mosquito grigio* di Ross è appunto nient'altro che il *Culex pipiens*. Koch s'inganna asserendo che soltanto il suo preteso *Culex nemorosus* punga gli uccelli.

A Roma ebbi ripetute occasioni di dimostrare io stesso cogli esperimenti che il *C. pipiens* si infetta pungendo i passeri presentanti nel loro sangue i gameti del suddetto parassita. Siccome i passeri in queste condizioni, quand'io sperimentava, erano a Grosseto relativamente frequenti, così furono da me usufruiti largamente per ripetere l'esperimento. Messi in una gabbia, sotto una zanzariera, facilmente infettavano i *C. pipiens* che vi si erano lasciati liberi. Siccome occorreva che la temperatura dell'ambiente fosse opportuna, così mi servivo della camera riscaldata della quale ho parlato più sopra.

### B). Esperimenti cogli altri *Culex*, coi *Phlebotomus*, coi *Centrotypus* ecc.

Dalle molte serie di esperimenti fatti in grandissima parte nella villetta del principe di Maccarese tolgo le seguenti:

7 giugno 1899. — Esame di ditteri, che avevano punto contemporaneamente un terzanario (terzana mite): 13 *C. penicillaris*, diedero risultato negativo. — 13 *C. albopunctatus*, id. — 1 *A. claviger*, apparve abbastanza infetto. — 1 *A. bifurcatus*, abbastanza infetto.

8 giugno. — Lo stesso terzanario coi gameti abbondanti: 7 *C. albopunctatus*, negativo. — 3 *C. penicillaris*, id. — 1 *C. pulchritarsis*, id. — 6 *C. vexans* (*seu malariae*), id. ([a]).

9 giugno. — Lo stesso terzanario: 1 *C. penicillaris*, negativo. — 2 *C. albopunctatus*, id. — 3 *C. vexans*, id. — 1 *C. pulchritarsis*, id. — 1 *C. Richiardii*, id. — 3 *A. claviger*, 1 negativo e 2 mediocremente infetti.

12 giugno. — Un vecchio coi gameti terzanari e semilunari: 3 *C. penicillaris*, negativo. — 4 *A. claviger*, 3 negativi e 1 mediocremente infetto.

13 giugno. — Individuo precedente: 1 *C. penicillaris*, negativo. — 3 *C. albopunctatus*, id. — 1 *C. Richiardii*, id. — 1 *A. bifurcatus*, molto infetto.

13 giugno. — Il suddetto terzanario col sangue non presentante che rarissimi gameti: 6 *C. albopunctatus*, negativo. — 1 *C. pipiens*, id. — 2 *C. penicillaris*, id. — 3 *C. vexans*, id. — 2 *A. bifurcatus*, id. — 1 *A. claviger*, id.

14 giugno. — Il suddetto terzanario nel quale erano ricomparsi abbondanti gameti: 13 *A. claviger*, 4 negativi, 9 molto infetti.

15 giugno. — Il vecchio suddetto: 21 serrapiche (*Centrotypus irritans*, Noè), negativo. — Parecchi *A. claviger*, positivi.

16 giugno. — Il vecchio suddetto: 6 *C. albopunctatus*, negativo. — 2 *C. vexans*, id. — 1 *A. bifurcatus*, positivo. — 1 *A. claviger*, negativo.

16 giugno. — Il vecchio suddetto: 1 *C. albopunctatus*, negativo. — 3 *C. vexans*, id. — 3 *A. bifurcatus*, positivo. — 2 *A. claviger*, id.

18 giugno. — Il vecchio suddetto: 9 *C. vexans*, negativo. — 4 *C. albopunctatus*, id. — 1 *C. penicillaris*, id. — 2 *C. pipiens*, id. — 1 *C. nemorosus*, id. — 1 *C. annulatus*, id. — 3 *A. bifurcatus*, 1 negativo e 2 positivi. — 2 *A. claviger*, positivi.

19 giugno. — Il solito vecchio: 3 *C. albopunctatus*, negativo. — 1 *C. vexans*, id. — 7 *A. bifurcatus*, positivo. — 3 *A. claviger*, id. — 2 *Phlebotomus*, negativo.

20 giugno. — Il solito vecchio: 1 *C. Richiardii*, negativo. — 20 *C. pipiens*, id. — 1 *A. pseudopictus*, positivo. — 5 *A. claviger*, 4 positivi e 1 negativo.

27 giugno. — Il solito vecchio: 2 *C. albopunctatus*, negativo. — 1 *C. vexans*, id. — 1 *A. claviger*, positivo.

29 giugno. — Un quartanario: 7 *C. penicillaris*, negativo. — 1 *C. albopunctatus*, id. — 1 *C. pipiens*, id. — 5 *A. claviger*, 4 negativi e 1 positivo.

31 luglio. — Un semilunare: 36 *C. vexans*, negativo. — 12 *C. penicillaris*, id. — 3 *A. claviger*, 1 negativo e 2 positivi. — 1 *A. bifurcatus*, positivo.

([a]) La dicitura è abbreviata, ma essendo conforme a quella dell'esperimento del 7 giugno, il senso risulta chiaro.

1 agosto. — Un semilunare: 50 *C. vexans*, negativo. — 1 *C. penicillaris*, id. — 1 *A. claviger*, positivo.

4 agosto. — Un semilunare in ottime condizioni: 1 *C. albopunctatus*, negativo. — 1 *C. Richiardii*, id. — 1 *C. pipiens*, id. — 5 *Centrotypus irritans*, id. — 7 *Phlebotomus*, id. — N. B. Gli *Anopheles* che punsero il giorno prima e il giorno dopo lo stesso individuo s'infettarono molto.

5 agosto. — Un semilunare: 39 *C. penicillaris*, negativo. — 1 *C. Richiardii*, id. — 4 *C. vexans*, id. — 2 *Centrotypus irritans*, id. — 6 *A. claviger*, 2 negativi, 4 positivi. — 16 *Phlebotomus*, negativi.

8 agosto. — Un semilunare: 25 *C. vexans*, negativo. — 1 *C. pipiens*, id. — 1 *C. albopunctatus*, id. — 7 *A. claviger*, 4 positivi e 3 negativi.

In vario occasioni ebbi a sperimentare con risultato indiscutibilmente negativo una ventina di *Culex* che allora non seppi determinare e che per conseguenza non furono da mo registrati. Oggi so che si trattava molto probabilmente della specie *C. modestus*.

Tacendo di altre serie di esperimenti, già i dati esposti sono sufficienti per dimostrare in modo incontrovertibile che anche i *Culex* molto comuni e caratteristici dei luoghi malarici, cioè i *Culex penicillaris* e *vexans*, o *malariae*, non propagano la malaria dell'uomo.

Il *C. albopunctatus* e il *Richiardii* vengono pure esclusi; gli esperimenti benchè non siano stati numerosi, possono però ritenersi sufficienti. Di altre specie pochissimi individui vennero sperimentati perchè sono relativamente rari.

Ciò non ostante chi tien presente tutto il complesso de' miei esperimenti sui *Culex*, non che la distribuziono geografica delle specie poco sperimentate e riflette inoltre che tutte le specie di *Anopheles* si mostrarono capaci di propagar la malaria, mentre nessuna specie di *Culex* si mostrò tale, troverà giustificata la mia induzione che i *Culex* non hanno nulla a che fare con la malaria umana.

Aggiungasi inoltre:

1°. Che delle specie denominate *Culex annulatus* e *spathipalpis* esaminai molti individui presi nelle camere dei malarici senza mai trovarli infetti, ad eccezione di un *Culex annulatus* che aveva gli sporozoiti (?) in piccolissimo numero nelle ghiandole salivali. Ho già detto altrove che forse il *Culex annulatus* propaga l'*Haemamoeba* degli uccelli (pag. 95).

2°. Ross sperimentò sull'uomo con risultato negativo il *greenish dappled-winged mosquito*, che a mio avviso, dov'essere nient'altro che il *C. annulatus*, ovvero una forma affine.

Dal momento che i *Culex* non sono atti a propagare i parassiti malarici dell'uomo e forse due specie propagano invece una sorta di quelli degli uccelli, sarebbe stato interessante provare che le altre specie del medesimo genere *Culex* servono del pari per gli stessi o per altri parassiti degli uccelli, o dei pipistrelli. Ciò purtroppo non è riuscito nè a Dionisi per questi ultimi, nè a me per gli altri.

Mi preme di far risaltare in particolare che molti *C. vexans*, *C. penicillaris*, *C. albopunctatus*, parecchi *Phlebotomus* e infine alcuni *C. annulatus* e *C. pulchritarsis* vennero invano sperimentati per la *Laverania* (*Halteridium*) degli uccelli.

Le stesse specie diedero risultato negativo per l'*Haemamoeba*; ma, essendomi mancate le prove di confronto e gli individui sperimentati per le varie specie essendo stati pochi di numero, non oso conchiudere definitivamente.

Anche gli esperimenti sui *Phlebotomus* e sui *Centrotypus* diedero risultati sufficienti per poter dimostrare che tali insetti non possono propagare la malaria umana.

Colle pulci e coi pidocchi ho creduto inutile di tentare. Colle sanguisughe già in altri tempi avevo fatto sperimenti negativi; con esse anche altri hanno sperimentato senza risultato. Coi tafani ho fatto pochi sperimenti negativi. Negativi risultarono anche alcuni esperimenti colle zecche; noto a questo riguardo che le larve del *Rhipicephalus annulatus* provenienti da madri infette di *Pyrosoma* non vollero attaccarsi all' uomo nonostante che venissero sperimentate abbondantemente in tre casi.

### 3. Esperimenti dimostranti che gli Anopheles inoculano la malaria all'uomo.

Nei primi tempi in cui io mi occupai di malaria credetti necessario di fare una prova sull'uomo; ma non seppi vincere la ripugnanza che m'ispirava e m'ispira tuttora qualunque prova eventualmente dannosa ad una persona, la quale, per quanto informata preventivamente, non può forse avere un giusto concetto del pericolo a cui si espone. Sperimentai perciò dapprima sopra me stesso. A Rovellasca nel mese di settembre 1898 tentai di farmi pungere dagli *A. claviger*, che avevo raccolti nelle camere degli ammalati di malaria a Locate-Triulzi. L'ingegner Billitz per questo scopo mi fece costruire una cassetta di legno con un foro quadrato chiudibile da un coperchio a guaina. Coi tubi di vetro i ragazzi da me istruiti raccolsero gli *Anopheles*, che mettemmo nella cassetta e portammo a Rovellasca, dove li liberai nella mia camera da letto: moltissimi morirono già nelle prime 24 ore; i pochi sopravvissuti non punsero, sia perchè la temperatura si era abbassata (eravamo nella seconda decina di settembre), sia perchè erano strapazzati per il trasporto, sia infine perchè in generale gli *Anopheles claviger* non vengono a pungermi. Alcuni, nonostante le mie cure, passarono nella stanza da letto della mia mamma e della mia sorella e uno punse la mia mamma senza conseguenza alcuna. Dopo qualche giorno nelle nostre camere da letto non si trovò più alcun *Anopheles* vivo; frattanto la donna di servizio, che nulla sapeva del mio esperimento, notava con meraviglia che specialmente nella mia camera da letto si trovavano sui muri zanzare morte.

Passo ora agli esperimenti che hanno dato risultato positivo.

#### Primo esperimento.

Tornato a Roma il 25 sett. trovai che la temperatura era ancora alta e gli *Anopheles* pungevano ancora; pensai quindi di ripetere l'esperimento non più su me stesso, anche perchè se mi fossi infettato di malaria non avrei potuto continuare il mio

studio, bensì sopra un individuo che si fosse prestato per il mio esperimento. Altre ragioni, che ho esposte nella parte storica, mi obbligarono a sollecitare e dopo di essermi messo d'accordo con Bignami, si fece quell'esperimento che per primo diede risultato positivo sull'uomo. Di questo io ho reso conto all'Accademia dei Lincei e il Bignami all'Accademia di Medicina. Qui lo riassumerò brevemente.

Avendomi Koch fatto sapere che egli non credeva fondati i miei sospetti sull'*A. claviger* e perciò ritenendo io che egli li avesse dimostrati innocenti, si usarono per l'esperimento molti *C. vexans* (*malariae*) e *penicillaris* e soltanto pochissimi *Anopheles*.

L'esperimento consisteva nel liberare in una camera d'un piano superiore dell'Ospedale di S. Carlo presso Santo Spirito, le zanzare che venivano prese a Maccarese. Un velo alle finestre impediva che fuggissero. In questa camera, quando si cominciò l'esperimento al 26 settembre, il paziente aveva già dormito impunemente non ostante le zanzare ([a]) dal 24 agosto sino al 19 settembre. Si noti che anche un altro individuo aveva già dormito del pari impunemente dall'8 al 22 agosto nella stessa camera. L'esperimento si era giudicato negativo in ambo i casi e appunto il 19 settembre era stato interrotto anche col secondo individuo. In tutti e due c'era stato un lievissimo aumento di temperatura (37,4 il giorno 22 agosto nel paziente che aveva dormito dall'8 al 22 agosto: 37,2 il 10 settembre, 37,3 il 17 settembre nel paziente, che aveva dormito nella camera dal 24 agosto al 19 settembre). A questi lievissimi aumenti di temperatura, facili a verificarsi in molti individui, che anzi nel paziente, il quale li presentò due volte durante l'esperimento, si erano già osservati anche prima, nessuno dava la menoma importanza, essendo riuscita anche vana la ricerca dei parassiti nel sangue.

Sicurissimo perciò che questo paziente in discorso non fosse stato infettato dalle zanzare colle quali Bignami da solo aveva sperimentato, non feci la menoma difficoltà a che esso venisse assoggettato alle punture delle tre specie da me precisate, per determinare se fossero atte a produrre la malaria ([b]).

Come ha rilevato benissimo Bignami, la scelta del soggetto dell'esperimento non poteva essere migliore.

Esso era infatti un vecchio, il quale non aveva mai avuto febbri malariche e si trovava da oltre 6 anni nell'Ospedale, nella sezione S. Maria diretta dal dott. Bastianelli Giuseppe. « L'essere il Sola rimasto per un tempo così lungo sotto la continua osservazione di un medico, il quale, già da molti anni, è addentro agli studî della malaria, è un dato così prezioso per la nettezza dell'esperimento, che io non posso

([a]) Nate nella camera stessa e appartenenti al *Culex pipiens* in grandissima parte e in picola parte anche al *Culex hortensis*: giudizio da me fondato sui campioni fornitimi da Bignami e opra molti individui da me raccolti morti nella camera in discorso.

([b]) Oggi si sa con certezza che i suddetti esperimenti fatti da Bignami da solo nel 1898, non otevano riuscire per doppia ragione: 1° perchè le zanzare adoperate non appartenevano al genere *nopheles*; 2° perchè se fossero stati anche *Anopheles* non avrebbero potuto essere infetti, essendo ati nella camera stessa, dove degevano soltanto pazienti non malarici. (Nello stesso anno 1898 Bignami precedentemente aveva fatto pungere due altri individui da zanzare raccolte a Porto (quali pecie?), senza ottenere effetto alcuno).

non insistervi sopra » (Bignami). Dal 26 settembre al 23 ottobre si liberarono nella camera numerosissime coorti di *C. vexans* e di *C. penicillaris* che venivano raccolte a Maccarese; soltanto una volta, verso il 20 ottobre, vennero introdotti nella camera anche pochissimi *Anopheles* (una diecina?) raccolti alla così detta Moletta di Maccarese, dove abitavano parecchi malarici. Non si può escludere che siansi insinuati nella camera cogli altri *Culex* suddetti alcuni *C. annulatus* e alcuni *A. bifurcatus*, ma certamente devono essere stati in molto piccol numero, altrimenti non sarebbero sfuggiti tanto a me quanto alla vista acuta del mio inserviente. Il 1° novembre nel paziente si manifestò la febbre malarica che continuò fino al giorno 4; il 3 Bignami riscontrò i parassiti della bidua (febbri estivo-autunnali), che osservai io pure, e cominciò a chinizzare l'ammalato. Il resto della storia non ha nessun interesse particolare.

Il caso qui riferito dimostra ad evidenza che le zanzare propagano la malaria. E infatti *senza la malaria, con la sola puntura dei culicidi palustri, in un luogo non malarico, si ottenne lo sviluppo delle febbri malariche (infezione estivo-autunnale), in un uomo mai stato affetto di malaria* ([a]).

Nella stessa camera durante la nostra esperienza dormirono due altri individui, uno però per due sole notti. Questi due non s'infettarono perchè, come oggi sappiamo quasi con certezza, non furono punti dagli *Anopheles* infetti.

Questo esperimento se fosse restato solo, a torto non avrebbe resistito alla critica: 1° perchè si poteva opporre che durante l'esperimento le finestre della camera riparate soltanto dal velo lasciavano libera l'entrata dell'aria, ciò che a Roma si ritiene molto pericoloso per le febbri; 2° perchè si poteva contrapporre che nella camera durante l'esperimento per tener vive le zanzare si erano messi dei vasi con pianticelle, cioè contenenti terra umida (vedi pag. 19).

Fortunatamente senza molto ritardo abbiamo potuto fornire ulteriori prove.

## Secondo esperimento.

Il secondo esperimento è stato fatto da Bignami e da Bastianelli con gli *A. claviger* da me forniti. L'esperimento è stato da noi tre combinato e pubblicato sommariamente. Bignami e Bastianelli successivamente ne diedero una storia particolareggiata, dalla quale tolgo i seguenti dati:

« N. N. giovane robusto, che non ha mai avuto febbri malariche e si trova per una malattia nervosa nell'ospedale di Santo Spirito da circa tre anni, acconsente a dormire in una camera con zanzare la notte fra il 13 e il 14 novembre. Il giorno prima erano stati liberati in questa camera circa un centinaio di *A. claviger* presi a Maccarese. Lo stesso soggetto seguita a dormire regolarmente in questa stanza fino al giorno 2 dicembre: vi entra sull'imbrunire e ne esce il mattino per passare la giornata nella corsìa comune.

([a]) Io ricercai gli *Anopheles* che avevo lasciati liberi nella camera per vedere se avessero succhiato sangue. Per caso li trovai vuoti e, fuorviato com'ero da Koch, ritenni che forse non avessero punto.

« Assicura di esser punto tutte le notti: d'altra parte si trovano sempre nella stanza varî *Anopheles* col ventre pieno di sangue. Un certo numero di *Anopheles* muoiono nel frattempo; peraltro alla fine dell'esperienza se ne trovano ancora molti in buone condizioni ». Sui primi di dicembre il paziente è indisposto ed ha leggiere elevazioni di temperatura; il 3 dicembre cade in preda ad una febbre malarica che si svolge come terzana doppia confermata dall'esame del sangue.

### Terzo esperimento.

Esso venne riassunto da me, da Bignami e da Bastianelli nei seguenti termini:

« Nel dicembre 1898 si nutrirono molti Anofeli col sangue, assai ricco di semilune, di un malato recidivo di febbri estivo-autunnali. Questi Anofeli, che così s'infettarono di semilune, furono tenuti per varî giorni ad una temperatura di 18°-22° C., e poi si portarono nella stufa alla temperatura di 30° C., per accelerare lo sviluppo dei parassiti. L'esame metodico di alcuni, sezionati di giorno in giorno, dimostrò che tutti contenevano sporozoi semilunari in via di regolare sviluppo, finchè si osservò la comparsa di capsule mature e anche di sporozoiti nelle ghiandole salivali. Essendo allora logico ritenere che, secondo ogni probabilità, anche gli Anofeli non esaminati presentassero un identico reperto, ne furono presi tre, e con questi il 2 gennaio si fece pungere un soggetto che non aveva mai avuto febbre; poi il 5 gennaio si fece punger di nuovo lo stesso individuo da due dei tre Anofeli suddetti.

« In tutto, dunque, questo individuo ebbe cinque punture da tre Anofeli.

« Dopo le punture i tre Anofeli vennero esaminati: si trovò che tutti tre avevano sporozoi maturi nell'intestino e capsule vuote; due soltanto avevano anche sporozoiti nelle ghiandole salivali.

« L'individuo punto dagli Anofeli, dopo aver avuto leggeri sintomi prodromici, il 14 gennaio fu preso da febbre alta, la quale si svolse col decorso tipico di una febbre estivo-autunnale di prima invasione: nel sangue si trovarono i parassiti corrispondenti.

« L'infezione fu subito curata e vinta con iniezioni di chinino ».

### Quarto esperimento

(fatto da Bignami e da Bastianelli).

Ottenuto lo sviluppo degli *A. claviger* da larve nate da uova deposte in laboratorio, questi furono infettati di terzana, e tenuti a temperatura di 25°-26° (all'incirca) dal 14 al 25 luglio. L'infezione di questi *Anopheles* dovette avvenire in giorni non ben precisati, in quanto che non si fecero pungere appositamente gli *Anopheles*, ma si lasciarono liberi nella stanza dov'era l'ammalato infetto da terzana.

Il 25 luglio sei *Anopheles* furono posti in stufa a 30°, e di questi, due punsero nelle ore pomeridiane del 28 un individuo che si prestò volontariamente, e che mai era stato malarico.

Il 30 luglio alle 12 m., gli stessi due *Anopheles* (rimessi in stufa dal 28 sera) punsero di nuovo lo stesso individuo: il 2 agosto non vollero più pungere e furono

sezionati. Si trovarono nell'intestino dell'uno corpi maturi con sporozoiti; nell'intestino dell'altro poche cisti avvizzite.

« Il soggetto ebbe il 16 agosto un attacco febbrile che cominciò con brivido dopo mezzogiorno; la temperatura salì a 39° e cadde con sudore. Nel suo sangue si notarono scarsissime forme terzanarie ».

Il 17 agosto mattina si ebbe apiressia. Alla sera nel sangue si trovarono parassiti terzanarî.

### Quinto esperimento.

La donna, che nel gennaio aveva servito per l'esperimento sulla quartana, dopo essere stata a lungo in carcere, dove fu molto curata col chinino, si presentò a me guarita l'estate scorsa; io tenevo vivo un *Anopheles claviger* nato in laboratorio e da me infettato di terzana pura; l'infezione era cominciata dodici giorni prima, sicchè doveva supporsi che le ghiandole salivari fossero infette. Per un errore dell'inserviente la donna venne punta da questo Anofele, invece che da altro nato in laboratorio e infettato di semilune da quattro giorni. Essendomi il giorno dopo accorto dell'errore esaminai l'Anofele che aveva punto la donna e trovai le ghiandole salivali senza parassiti: sulle pareti intestinali si trovarono alcune capsule vuote. Bisogna dunque dire che le ghiandole salivali con una puntura si erano liberate di tutti gli sporozoiti: ma questi non dovevano essere stati numerosi, a giudicare dal numero delle capsule vuote e dalla quantità degli amfionti trovati in altri Anofeli, che s'erano infettati pungendo contemporaneamente lo stesso malato terzanario. Dopo 15 giorni la donna ritornò da me affetta da terzana secondo ogni verosimiglianza prodotta dell'unico Anofele che la punse. Venne immediatamente curata e guarita.

I sopra riferiti esperimenti, che omai non dovrebbero più oltre venir ripetuti, dimostrano, se pur ce n'era bisogno, non soltanto che gli *Anopheles* propagano la malaria all'uomo; ma anche che le tre specie di parassiti malarici dell'uomo sono buone, cioè l'una non trasformabile nell'altra. Questa diversità delle specie era stata sostenuta da me e da Feletti per i primi, ma fino agli ultimi tempi aveva sempre trovato contradditori.

## 4. Esperimenti e osservazioni dimostranti che gli Anopheles nascono senza germi malarici.

Un esperimento venne fatto a Santo Spirito dal 30 marzo al 29 aprile da Bignami e Bastianelli, un altro molto più esteso e completo venne fatto nel mio laboratorio dal 10 aprile al 10 agosto. Sia il primo che una parte del secondo si leggono già nella nostra Nota del 7 maggio 1899 (11). Qui riferisco per esteso questo secondo.

Dopo essermi persuaso che le zanzare neonate non potevano essere infette non trovando mai i parassiti in tutte quelle che esaminavo, più per convincere gli altri che per accertarmene io stesso, parecchi individui che non erano mai stati malarici

e che mostravano buona voglia, furono da me pregati di sottoporsi, insieme con me, alle punture degli *Anopheles* neonati, *claviger* e *bifurcatus*. Io stesso davo il buon esempio.

Precisiamo le condizioni dell'esperimento. In una camera che, finchè la temperatura minima di Roma discese al disotto dei 20°, veniva riscaldata a 25°-26°, stavano collocati tre acquarî e quattro bacili di terra. Per dar ricetto gradito agli *Anopheles* si erano posti qua e là dei vasi con piante; agli angoli si erano appese delle stuoie e una tenda, sotto alle quali essi potevano nascondersi.

Negli acquari e nei bacili parecchie volte per settimana e talora tutti i giorni si portavano numerose larve, preferibilmente grosse, e ninfe di *A. claviger* e *bifurcatus*, insieme con acqua, vegetali (a preferenza vellutello) e talvolta fango, il tutto preso negli stessi luoghi dove vivevano le larve. Questi luoghi erano scelti con gran cura tra i più malarici che si conoscano in Italia (Maccarese. Porto, Tortreponti, Ninfa, Frasso, Tenuta Berardi nelle Paludi Pontine, Metaponto, Policoro, Castelnuovo-Vallo, ecc.). Ogni tanto dagli acquari e dai bacili si toglieva l'acqua soverchia e talvolta anche si mutava del tutto. Avevamo dunque in laboratorio le stesse condizioni che troviamo in natura, cioè non soltanto gli Anofeli, ma anche l'ambiente palustre.

Nei quattro mesi che durò l'esperimento gli individui che si fecero pungere furono i seguenti:

G. B. — Veniva punto poco e di raro: quasi soltanto quando non c'erano altri nella camera; non gli si manifestavano pomfi al luogo della puntura.

N. — Venne punto moltissime volte, quasi tutti i giorni; certi giorni ricevotte 40 punture; gli si manifestavano subito grossi pomfi, talvolta anche serpiginosi, che duravano circa 48 ore.

I. — Venne punta poche volte al giorno (4, o 5 volte in media) per circa due mesi: i pomfi le si manifestavano dopo 24 ore circa piuttosto piccoli, ma duravano a lungo.

G. D. — Venne punto moltissime volte per circa 2 mesi; i pomfi gli si manifestavano come a N., ma erano sempre rotondi.

G. E. — Venne punto discretamente a intervalli, in tutto per circa 10 giorni.

M. — Venne punto molto, a intervalli, in tutto per circa 20 giorni.

J. — Venne punto per un mese (dal 10 luglio al 10 agosto) molte volte al giorno.

Nessuno di noi sette ebbe a risentire alcuna conseguenza dalle punture.

Soggiungo un breve commento.

Quando dopo circa un mese da che l'esperimento era stato iniziato, vidi confermata la mia tesi, che, cioè, gli Anofeli nascono senza germi malarici, cominciai a farmi delle obbiezioni che mi indussero a rendere l'esperimento più perfetto.

Sta bene, mi dicevo io, l'esperimento non poteva riuscire altrimenti, anche perchè di primavera nei luoghi malarici (io aveva fatto queste osservazioni sopratutto a Tortreponti) si erano sviluppati molti *Anopheles* e i casi di malaria se pur c'erano stati, erano stati in numero minimo ([a]): ciò vuol dire che gli *Anopheles* non trasmettono diret-

([a]) Che non esista un'epidemia primaverile di malaria da infezione primitiva è stato dimostrato l'anno scorso da Dionisi, dal quale appresi per la prima volta questo importante fatto, da Celli, da Koch, ecc.

tamente la malaria alla prole, nella stagione tepida. Ma chi ci assicura che ciò non possa accadere nella stagione calda? Chi ci assicura che gli Anofeli, morendo nell'acqua, non vi lascino dei germi che poscia nei mesi estivi infettino le larve di altri Anofeli? Appunto per togliere ogni dubbio, si prolungò l'esperimento per quattro mesi, e dopo il primo mese, si ebbe cura di raccogliere le larve, che servivano per l'esperimento, in vicinanza ai luoghi dove abitavano individui malarici; si ebbe anche l'attenzione di sminuzzare molti Anofeli presi in abitazioni di malarici, dentro l'acqua degli acquari e dei bacili. Nonostante queste modificazioni, l'esperimento non riuscì mai positivo. Il mio esperimento dunque nel miglior modo *esclude la possibilità che i germi malarici passino da Anofele a Anofele.*

## 5. Esperimenti e fatti dimostranti che la malaria dell'uomo non ha nulla a che fare con la malaria degli altri animali.

Già fin dal 1890 con Feletti avevo dimostrato che i parassiti malarici degli uccelli non hanno nulla a che fare con quelli dell'uomo. Quest'anno ebbi campo di riconfermare le nostre osservazioni.

Negli uccelli un genere di parassiti malarici (*Halteridium Danilewskyi*) è piuttosto lontano dai parassiti malarici dell'uomo. L'altro genere *Haemamoeba* contiene due specie: *H. relicta* (Grassi e Feletti) e *H. subpraecox* (Grassi e Feletti). Sono queste le forme simili ai parassiti malarici dell'uomo, dai quali si distinguono tuttavia bene, sopratutto perchè i movimenti ameboidi non sono riscontrabili neppure quando le forme sono giovani. Celli e Sanfelice fino dal 1891 avevano trovato i gameti di queste forme che descrivono però come « fasi di vita libera nel plasma sanguigno » destinate a degenerare e morire. Questi gameti che sono differenti da quelli dell'uomo confermano sempre più la distinzione specifica da me ammessa.

Quest'anno il dott. Dionisi ebbe occasione di iniettare ad un uomo sangue di civetta presentante un enorme numero di *H. subpraecox* senza provocare alcuna conseguenza.

Un parassita malarico dei passeri (*H. relicta*) non si sviluppò in più di trenta *Anopheles*. La prova deve ritenersi decisiva perchè contemporaneamente s'infettavano quasi tutti i *C. pipiens* che pungevano gli stessi passeri.

Ebbi ripetutamente occasione di far pungere giovani passeri da *Anopheles*, infetti da semilune nelle ghiandole salivali, senza ottenerne alcun effetto.

Ebbi pure occasione di constatare che, come era presumibile, i *C. pipiens* colle ghiandole salivali infette pungono l'uomo senza produrgli la malaria.

È dunque dimostrato che i parassiti malarici dell'uomo non hanno nulla a che fare con quelli degli uccelli.

Koch, senza far le debite prove, si è pronunciato sulla non identità di tutti i parassiti malarici degli animali con quelli dell'uomo ([a]).

([a]) Egli ha fornito invece prove molto interessanti in una sua recentissima pubblicazione (26), che non era ancora uscita quando scrivevo il presente Capitolo.

Da noi in Italia le ricerche fin ora fatte condussero a scoprire una sola sorta di parassiti che si potrebbero a tutta prima confondere con quelli dell' uomo. Sono parassiti che si riscontrano in peculiari specie di pipistrelli. Dionisi, che li ha scoperti, ha avuto la pazienza di studiarli lunghissimo tempo venendo alla conclusione non supposta soltanto, ma anche dimostrata ampiamente, che appartengono a specie differenti da quelle dell' uomo.

## 6. Esperimenti ed osservazioni riguardanti l'influenza della temperatura sullo sviluppo dei parassiti malarici.

Fin dal principio delle mie ricerche pensai che la temperatura dovesse avere una grande influenza; difatti nella seconda edizione (13) della mia prima Nota ai Lincei si legge che occorrono altre ricerche riguardanti anche la temperatura per precisare ulteriormente i rapporti della malaria coll'*A. claviger* nell' Europa media. Nella nostra Nota pubblicata il 22 dicembre 1898 sta scritto: « Gli allevamenti venivano fatti mettendo immediatamente dopo la puntura l'*A. claviger* in stufa alla temperatura di 30°. Una serie di osservazioni datanti dai primi di novembre ci fa sospettare che alla temperatura di 14-15° (temperatura ambiente) nelle prime ore dopo la puntura, non si possa avere lo sviluppo dell'emosporidio. Uno sviluppo si ha certamente tenendo gli *A. claviger* a temperatura di 20-22°, ma procede più lentamente che non a 30° ».

Poco più tardi Ross ci comunicava osservazioni simili, fatte sui parassiti malarici degli uccelli dentro il corpo del *C. pipiens*.

Nel nostro lavoro pubblicato dalla Società per gli studî della malaria sta scritto: « Alla temperatura di 14-15° C., lo sporozoo delle febbri estivo-autunnali non si sviluppa nel corpo dell'Anofele; a 20-22° C. circa subisce uno sviluppo regolare ma lento; alla temperatura costante di 30° C. in circa sette giorni compie lo sviluppo completo fino alla formazione degli sporozoiti. . . . . . Così a noi accadeva di riscontrare costantemente lo sviluppo dello sporozoo malarico negli Anofeli tenuti in stufa, mentre tale sviluppo non avveniva in quelli tenuti nell'ambiente del laboratorio, che raggiungeva di rado e solo per alcune ore i 14-16° C. . . . . .

« La necessità di una temperatura adatta è sopratutto evidente per le prime modificazioni che subisce la semiluna nel lume dell' intestino dell'*Anopheles*. Infatti è noto da molto tempo ([a]) che in inverno si vede di rado la formazione dei corpi flagellati dalle semilune, ma se appena fatto il preparato, lo si pone in un termostato, allora si può osservare la formazione dei flagelli in qualunque stagione. . . . . .

« Ognuno vede l' importanza epidemologica delle suddette condizioni ».

Per questa ragione ritenni necessario di estendere molto gli esperimenti sulla temperatura; intorno ai quali peraltro, non avendo avuto tempo sufficiente, e man-

([a]) Il fatto venne osservato per la prima volta da me e da Feletti.

Schaudinn fa derivare l'eccitamento che induce i parassiti malarici alla copula, dal raffreddamento che essi subiscono, abbandonando l'animale a sangue caldo. Ciò non può essere perchè fuori di noi la fecondazione dei parassiti malarici avviene anche a temperatura elevata come la nostra.

candomi ora gli ammalati in condizioni opportune, debbo limitarmi a riferire i seguenti dati:

1°. Esperimenti fatti con 3 *A. claviger* messi, subito dopo la puntura di uomini malarici, in un refrigeratore ad acqua circolante, dentro il quale la temperatura non discendeva al disotto di 15°,5 C. e non saliva al di sopra dei 17°,5 C. nei giorni dell'esperimento (16-25 giugno). Non vi si svilupparono nè i parassiti della bidua nè quelli della terzana. Altri 12 *A. claviger* messi contemporaneamente nel termostato dopo la puntura degli stessi uomini malarici si infettarono tutti.

Questo esperimento che venne da me ripetuto due altre volte in condizioni simili, fa credere che non avvenga lo sviluppo della terzana e delle semilune ad una temperatura variabile da 15°,5 a 17°,5 C.

2°. Esperimenti fatti cogli *A. claviger*, esposti a temperatura inferiore di 15° C., dopo iniziato lo sviluppo dei parassiti malarici nelle pareti intestinali. Due *A. claviger* che hanno punto un fornaio infetto di semilune il 21 e l'hanno ripunto il 23 e il 26 ottobre, furono tenuti a 26-28° eccetto la notte dal 26 al 27, durante la quale stettero sulla terrazza del laboratorio. Vennero uccisi il giorno 30 ottobre. I parassiti si trovarono bene sviluppati, normali, soltanto un po' arretrati nello sviluppo: corrispondevano evidentemente alle punture dei giorni 21 e 23.

Siccome la notte del 26-27 ottobre la temperatura discese a 11° C. circa, così si può conchiudere che, dopo iniziato lo sviluppo del parassita nelle pareti dell'intestino, la temperatura può abbassarsi senza pericolo, almeno fino ad un certo punto. Recentemente ho avuto occasione di confermare questo sperimento: la temperatura discese senza alcun inconveniente a 9° C. circa per due notti ([a]); si trattava probabilmente di parassiti terzanari.

3°. Esperimento tendente a dimostrare che i parassiti terzanari nell'*Anopheles* si sviluppano ancora ad una temperatura in cui non si sviluppano più i parassiti semilunari.

Quando avevo a mia disposizione il vecchio, infetto ad un tempo di gameti terzanari e semilunari, mi è accaduto un fatto molto singolare che suggerisce delle considerazioni importanti dal punto di vista epidemiologico.

Sperimentai sul suddetto individuo un primo gruppo di 6 *A. claviger* verso il meriggio del giorno 17 giugno; un secondo gruppo di 6 altri dalle 13 alle 16 del giorno 17 stesso; un terzo gruppo di 6 altri dalle 9 alle 12 del giorno 18.

I primi due gruppi vennero tenuti a temperatura ordinaria; il terzo fu subito messo nel termostato a 28° C. circa.

([a]) L'inverno scorso nella parete dell'intestino di *Anopheles* presi in libertà, trovai ripetutamente dei parassiti malarici, i quali erano in via di degenerazione, secondo ogni verosimiglianza perchè la temperatura si era troppo abbassata. — A questo proposito mi permetto una piccola digressione. Gosio (43) insegna a me ed a' miei collaboratori che « ad un *maximum* di Anofeli infetti constatato (a Maccarese) agli ultimi di novembre, anzichè un *maximum* di nuove infezioni nello stesso novembre avrebbe dovuto corrispondere un *maximum* di nuove infezioni su per giù nella prima quindicina di dicembre, mese in cui i detti autori vedono invece il fenomeno malarico già mitigato ». Forse Gosio non avrebbe fatto quest'osservazione se avesse tenuto conto degli effetti della temperatura bassa di cui si parla nel presente Capitolo, nonchè dell'ibernazione degli Anofeli della quale ho parlato nei Capitoli precedenti.

Gli *Anopheles* del primo gruppo si infettarono di parassiti terzanari e semilunari; gli *Anopheles* del terzo gruppo si infettarono ugualmente; invece quelli del secondo gruppo diedero risultato positivo soltanto per la terzana. Riflettendo su questo risultato mi venne alla memoria che nel pomeriggio del 17 era avvenuto un abbassamento di temperatura abbastanza notevole. Mi procurai perciò le temperature di Roma dal 12 al 18 giugno; esse sono le seguenti:

| GIORNI | | | | | | | ORE |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | |
| o<br>20,2 | o<br>19,7 | o<br>18,5 | o<br>19,2 | o<br>18,1 | o<br>16,0 | o<br>18,3 | 7 |
| 22,7 | 23,1 | 21,5 | 19,7 | 21,8 | 20,5 | 21,0 | 9 |
| 25,6 | 26,7 | 23,3 | 23,4 | 24,0 | 23,3 | 16,6 | 12 |
| 26,7 | 26,0 | 23,7 | 23,5 | *24,0* | *22,8* | 18,0 | 13 |
| 25,9 | 25,2 | 23,4 | 24,0 | *24,4* | *22,8* | 17,9 | 15 |
| 24,0 | 23,4 | 21,8 | 22,6 | 21,5 | 21,1 | 18,0 | 18 |
| 21,2 | 21,9 | 20,0 | 20,7 | 20,0 | 18,5 | 17,3 | 21 |

Io non conosco precisamente la temperatura della camera a nord nel mio laboratorio, in cui io sperimentavo: ma studiando il precedente prospetto e confrontandolo coi dati sopra esposti, è lecito domandarsi se non fu l'abbassamento di temperatura che impedì lo sviluppo dei parassiti semilunari nelle ore pomeridiane del giorno 17. Si può obbiettare che alla mattina del 18 la temperatura era ancora più bassa che nel pomeriggio del 17 e ciononostante i parassiti semilunari si svilupparono. L'obbiezione tuttavia non regge perchè, avendo osservato l'abbassamento notevole della temperatura, avevo posto gli *Anopheles* che avevano punto la mattina del 18 uno per uno immediatamente nel termostato, mentre quelli che avevano punto nel pomeriggio del 17, erano stati a temperatura ordinaria, come sopra ho detto.

4°. Bignami e Bastianelli fino al maggio del 1899 sperimentarono ripetutamente la quartana cogli *Anopheles* a 30° C. circa, senza mai ottenere alcuno stadio di sviluppo; io invece ottenni gli amfionti di cui sopra ho parlato in una donna, tenendo gli *Anopheles* a 23-25° C. Durante il luglio ottenni amfionti quartanari nel corpo degli *Anopheles* alla temperatura di 16°,5 C. circa, mentre non ne ottenni alcuno in *Anopheles* che avevano punto contemporaneamente lo stesso individuo, ma che venivano tenuti a 30° C. circa. [Purtroppo gli *Anopheles* non erano nati in laboratorio e di 12 sperimentati a circa 16°,5 C. soltanto 2 diedero risultato positivo (alcuni parassiti in ciascuno dei due)]. Questi esperimenti fanno supporre che manchi lo sviluppo dei parassiti della quartana a temperature elevate e che essi si sviluppino invece anche a temperature, alle quali non resistono i parassiti terzanari e semilunari.

S' intende sempre che, come fu già sopra accennato, il momento in cui la temperatura può arrestare lo sviluppo è quello corrispondente alla fecondazione, probabilmente fino allo stadio di vermicolo.

Gli esperimenti riferiti sotto i nn. 3° e 4° tendono a spiegare perchè la quartana sia molto rara nei paesi tropicali ([a]) e arrivi ad una latitudine settentrionale, per quanto io so, non raggiunta dalle altre forme; perchè le semilune manchino forse totalmente nell' Europa media e siano più comuni nell' Italia media che nell' Italia settentrionale, perchè al principio dell'estate i casi primitivi di infezione semilunare siano, a quanto pare, meno comuni che più tardi, perchè in novembre e in dicembre del 1898 gli Anofeli di Maccarese infettarono soltanto di terzane, ecc. ecc.

L'argomento però vuol essere ripreso e ristudiato, sia perchè gli sperimenti da me fatti, specialmente quelli sulla quartana, sono insufficienti, sia perchè non mi sembra che la temperatura possa spiegar tutto; non potendo io riuscire a capire perchè p. es. in un paese così caldo come il Sénegal la malaria taccia quasi per circa 7 mesi ([b]) e perchè fino al giugno non abbia trovato a Maccarese Anofeli infetti, mentre se ne trovavano ancora nell' inverno ([c]).

*
* *

Nel corpo dell'*Anopheles* i parassiti malarici, terzanario e semilunare, compiono il loro ciclo, cioè arrivano fino alle ghiandole salivari in circa 8 giorni a temperatura costante da 28° a 30° C.

Nei mesi di luglio ed agosto a Roma in una camera rivolta a ponente e che di notte si teneva chiusa, lo sviluppo richiese 12-13 giorni; nel mese di settembre invece (prima metà) richiese 14 giorni. A temperatura più bassa lo sviluppo si rallenta proporzionalmente; gli abbassamenti alternantisi cogli elevamenti di temperatura producono rallentamenti e acceleramenti corrispondenti.

*Aggiunta durante le correzioni.*

I dati esposti in questo capitolo dimostrano che l'abbassamento di temperatura riesce mortifero ai gameti nel tempo in cui si trovano ancora nel lume dell'intestino dell'*Anopheles:* se la temperatura scende al di là di un certo limite essi vengono digeriti. A me sembra verosimile che la temperatura troppo bassa impedisca la fecondazione, ma che possa impunemente discendere fino ad un certo punto dopo che la fecondazione è avvenuta (e si è formato il vermicolo?). (Vedi del resto pag. 112).

Ritengo perciò che un buon criterio, per determinare se le varie specie di parassiti malarici presentino differenze nel minimo grado di temperatura necessario per il loro sviluppo nell' intestino dell'*Anopheles*, sia fornito dallo studio della temperatura a cui i gameti si flagellano (ossia gli anteridi emettono le microspore). Con questo

([a]) Recentemente Koch ha trovato molti casi di quartana anche nei paesi tropicali. Bisogna perciò forse ritenere che il non aver noi ottenuto lo sviluppo della quartana a 30° fosse casuale. In ogni modo occorre rifare gli sperimenti.

([b]) Mi sorge il dubbio che nei mesi suddetti che sono i mesi asciutti, nei punti del Sénegal dove non c' è malaria, non ci siano *Anopheles*.

([c]) Queste osservazioni si riferiscono al 1899: il lavoro epidemiologico del dott. Dionisi rischiarerà questo punto oscuro. Nel corrente anno avendo tenuto dietro con maggior cura al fenomeno in discorso, ho potuto stabilire che dall'aprile fin oltre la metà di maggio a Maccarese non solo i casi di febbri malariche, ma anche gli Anofeli furono scarsissimi, in tal grado da non farmi più apparir strana la mancanza, per quanto ho veduto, d'infezione in questi ultimi.

indirizzo si è messo al lavoro nel mio laboratorio il dott. Martirano. Egli ha redatto un sunto delle sue ricerche e mi ha permesso di qui riportarlo:

« Queste ricerche per istabilire colla maggior precisione possibile il grado più basso di temperatura a cui le semilune possono flagellarsi, furono fatte lungo il dicembre scorso sul sangue di un recidivo, che di tanto in tanto presentava accessi febbrili. Ecco le conclusioni a cui si è giunti:

« I. Nel sangue rapidamente essicato non esistevano che le forme a semiluna; le forme rotonde si videro solo nel sangue non disseccato, dopo qualche minuto da che era stato estratto. L'arrotondarsi della semiluna preludeva il suo flagellarsi, quantunque non tutte le semilune, che si arrotondavano, si flagellassero.

« II. Non fu mai osservata la flagellazione delle semilune ad una temperatura inferiore a 17° quantunque si osservassero i preparati per molte ore.

« III. Alla temperatura di 18° dopo circa 25′-30′ si videro parecchie semilune flagellarsi. Fra i 18° e i 20° un gran numero di semilune si flagellò in 20′-30′.

« IV. Si è costantemente osservato che solo *una parte* delle semilune di un preparato si flagellava; altre si arrotondavano senza flagellarsi; moltissime non cangiavano forma.

« V. Le semilune si comportavano nel modo suaccennato anche somministrando al malato forti dosi di chinino ».

---

## CAPITOLO VII.

# Sviluppo dei parassiti malarici umani nel corpo degli Anofeli.

In questo Capitolo mi propongo sopratutto di dimostrare che alle generazioni neutrali dei parassiti malarici che ritmicamente si succedono nel corpo dell' uomo, s' intercala necessariamente, al momento opportuno, una generazione sessuata dentro il corpo dell'*Anopheles*.

Ma prima di entrare nell'argomento ritengo necessario fare un cenno dei parassiti malarici dentro il corpo dell' uomo.

### 1. Premesse riguardanti i parassiti malarici nel corpo dell'uomo.

A) Osservazione di Metschnikoff. — Devo ricordare che per un certo tempo i parassiti malarici dell' uomo furono sospettati semplici alterazioni dei globuli sanguigni. E in realtà sembrava che mancasse la prova rigorosa della loro natura parassitaria. Fu Metschnikoff il primo che pronunciò nel 1887 una parola sull' importante argomento. Egli intuì che i parassiti malarici fossero Sporozoi, basandosi specialmente

sui *corpi* così detti *flagellati* simili ad altre forme da lui scoperte nei Coccidi. Purtroppo queste forme dei Coccidi che veramente trovano riscontro nei corpi flagellati vennero dimenticate e sfuggirono ai molti autori che dopo Metschnikoff affrontarono l'argomento. Se fin dal 1887 si fosse tenuto presente questo confronto fatto dal Metschnikoff certamente la questione della malaria avrebbe pigliato un altro indirizzo.

B) Scoperte degli Italiani. — Nel 1889 Golgi distinse tre sorta di parassiti malarici (*varietà che forse potrebbero*, secondo l'autore, *trasformarsi l'una nell'altra*, *varietà d'una sola e medesima specie*), una legata alle febbri irregolari, un'altra alla terzana e la terza alla quartana, ognuna con un ciclo evolutivo e riproduttivo, il quale corrisponde mirabilmente coll'andamento degli accessi febbrili. Egli *asserì* che specialmente questi cicli regolari indicavano con *tutta sicurezza* che le forme scoperte dal Laveran erano parassiti, e non prodotti di degenerazione.

Nonostante la supposta trasformazione dei parassiti malarici (negata da me e da Feletti per i primi), nonostante l'imperfezione dello studio delle febbri irregolari (approfondito poi da Marchiafava, Celli ecc.), le scoperte di Golgi sono di grandissimo interesse, e tutti gli studiosi le hanno confermate e ammirate.

C) Nucleo dei parassiti malarici. — Fin dal 1887 io esponevo a Celli il mio pensiero, che se il supposto parassita malarico è veramente tale, deve presentare molto probabilmente un nucleo. Che se non lo possiede, allora la sua natura parassitaria resta sempre più discutibile, perchè bisogna riferirlo ad una classe la cui esistenza va diventando sempre più incerta, cioè ai moneri.

Quasi due anni più tardi Celli in collaborazione con Guarnieri pubblicavaa ppunto una serie di interessanti ricerche in proposito. I parassiti malarici presentano, secondo essi, un ectoplasma intensamente colorito, un entoplasma molto debolmente colorito (è scolorito affatto nelle belle figure che accompagnano il loro testo), ed un corpo a limiti netti, avente particolare struttura, perciò presentante, o una colorazione pallida, o su questa uno o due corpicciuoli più intensamente coloriti (sono nelle figure coloriti intensamente, come l'ectoplasma), oppure la parte più colorita disposta come a reticolo.

Alcuni di questi corpi si vedono altresì prima che si siano fatti immobili i plasmodi, dei quali possono seguire i movimenti, presentando così un certo grado di ameboidità. Questo carattere ed insieme il modo di colorazione e la sede, ove sono costantemente, cioè in mezzo all'entoplasma, fanno credere (sono parole degli A.) questi corpi veri e propri nuclei, quali si trovano, alle identiche condizioni, in molti Missomiceti. « Nei plasmodi senza pigmento spiccano talora punti più colorati che potrebbero essere il principio del differenziamento del nucleo ». « Ciò si può notare anche nelle spore. » Le precedenti particolarità di struttura non si osservano più quando i plasmodi passano alla fase riproduttiva. Collo stesso mezzo di colorazione i suddetti A. hanno veduto che nelle forme semilunari *spesso* colorasi un corpicciuolo rotondo, verso il mezzo e vicino alla massa di pigmento (un tal corpicciuolo, secondo gli A., nei Coccidi è considerato come nucleo). Nelle figure il corpicciuolo in discorso è rappresentato colorito intensamente come una parte del citoplasma.

D'altra parte è d'uopo notare che gli A. non hanno ottenuto alcun risultamento colle solite sostanze che si adoperano per colorire i nuclei (carminio, ematossilina).

Come si rivela da queste imparziali citazioni, Celli e Guarnieri hanno dichiarato entoplasma il succo nucleare, ed hanno descritto come nucleo il nodetto nucleoliforme. Il loro nucleo non si coloriva più intensamente del citoplasma, eccetto nei giovani plasmodi e nelle spore, dove però essi non lo distinguevano bene, o non lo trovavano, come risulta dal testo e dalle figure. Al momento più importante lo perdevano di vista e perciò nulla osservarono che indicasse la parte presa da questo nucleo nella riproduzione.

Poco prima di Celli, Golgi aveva riscontrato nelle spore della quartana, « un corpicciuolo splendente a fresco, più spiccatamente colorabile colle aniline, visibile specialmente nel momento in cui si compie la segmentazione, che potrebbe essere interpretato quale un nucleo. Tale corpicciuolo non si vede nei globetti della terzana, per altro è verosimile che siffatta differenza sia esclusivamente da riferirsi al diverso diametro. »

Crediamo dunque (scrivevamo io e il collega Feletti nel 1890) autorizzata la conclusione che specialmente le figure di Celli e di Guarneri lasciavano intravedere l'esistenza di un nucleo, ma non lo dimostravano con quella sicurezza che richiedevasi.

Perciò io e Feletti riprendevamo la quistione concludendo che *esiste nei parassiti malarici un nucleo, come in molti altri protozoi, e caratterizzato da un peculiare nodetto nucleoliforme. Questo nucleo piglia la parte dovuta nei fenomeni di riproduzione e precisamente, per quanto noi abbiamo veduto, si moltiplica per divisione diretta.*

Successivamente Mannaberg ha in sostanza confermato i nostri risultati. Anche egli ha distinto un nucleo vescicolare, la peculiare disposizione del citoplasma, la separazione di questo in due strati ad un dato periodo di sviluppo, ecc. Anch'egli, come noi, ammette molto verosimile che la divisione sia diretta. Sulla modalità della riproduzione Mannaberg differisce alquanto da noi, perchè il nodetto nucleoliforme, ad un certo momento, sparirebbe; lo che noi invece interpretiamo come processo anormale.

Quasi contemporaneamente a Mannaberg, Romanowski interpretava con noi l'entoplasma di Celli come succo nucleare; però riscontrava nel nodetto nucleoliforme una rete cromatica formante più tardi un gruppo di cromosomi; la moltiplicazione doveva essere perciò cariocinetica.

Le conclusioni suddette non trovarono favore nella scuola di Roma.

Recentemente Ziemann riprese il metodo di Romanowski e con esso confermò in grandissima parte ciò che io e Feletti avevamo scoperto; ma non avendo consultato il nostro lavoro in esteso, credette di aver osservato cose nuove e si limitò a citarci molte volte, sempre trovando a ridire. Egli fece risaltare in modo particolare come il metodo da noi proposto non meritasse fiducia, ciò che era anche opinione di altri.

Voglio qui riportare questo nostro metodo e discuterlo alquanto. Si mette sul vetrino portoggetti una goccia di soluzione allungata di bleu di metilene, o di fucsina

(una goccia di soluzione alcoolica satura in tant'acqua distillata quanta ne contiene un comune vetro da orologio); indi raccolta una piccola goccia di sangue malarico sul vetrino coproggetti, si lascia cadere questo sopra la goccia del liquido colorante. Per mescolare i due liquidi basta sollevare da un lato il vetrino coproggetti e lasciarlo ricadere. Il preparato è ben riuscito quando appare del tutto trasparente.

Con questo metodo si ottiene di solito il nodetto nucleoliforme intensamente colorato. Il citoplasma può comparire colorato, o no; il succo nucleare resta incoloro. In ogni caso il corpo nucleoliforme viene assai più intensamente colorato del resto del parassita.

Noi non sappiamo spiegarci come agisca sui parassiti malarici il liquido che viene a formarsi aggiungendo al sangue la suddetta soluzione acquosa di un colore d'anilina. Certo è che si può contare su di essa per dimostrare il nucleo, come provavano già nel 1890 i raffronti da noi fatti, osservando a fresco, ovvero osservando preparati eseguiti con altri metodi, od anche sperimentando il nostro metodo su altri protozoi parassiti.

Fin d'allora però avvertivamo che il nostro metodo non era del tutto commendabile per lo studio della fine particolarità di struttura del nucleo. Infatti col metodo da noi proposto, la soluzione acquosa di un colore d'anilina veniva applicata senza previa fissazione; ciò doveva alterare le minutissime strutture, ma non poteva tuttavia creare il nucleo se non fosse esistito. D'altra parte i fissatori anche molto delicati, come ha dimostrato recentemente Fischer, producono essi pure delle gravi alterazioni; perciò un metodo non può giudicarsi *a priori*, ma prima dev'essere controllato razionalmente con altri metodi. Nel nostro caso questi controlli non mancarono e quelli di Ziemann specialmente vennero molto a proposito.

Recentissimamente Bignami e Bastianelli confermarono in complesso ciò che aveva veduto Ziemann, e, pur differendo parzialmente nelle interpretazioni si persuasero che veramente conviene definitivamente abbandonare la loro distinzione di citoplasma cromatico, di citoplasma acromatico, e di granulo cromatico, per tornare al nostro concetto di citoplasma e nucleo con nodetto nucleoliforme ([a]).

Se io confronto le conclusioni di Ziemann, colle nostre del 1890 debbo rilevare:

1°. Egli ha confermato essenzialmente quel modo di riproduzione del nucleo che noi avevamo stabilito fino dal 1890. Ho qui perciò riportate alcune figure di Ziemann (I. 96, 98, 99) e alcune del nostro lavoro del 1890 (I. 102-104).

2°. Evidentemente il suo corpuscolo cromatico corrisponde al nostro nodetto nucleoliforme, come risulta confrontando le figure or citate.

3°. Ziemann ha aggiunto che il corpuscolo cromatico compatto nei parassiti piccoli, man mano che il parassita ingrossa, acquista una struttura spongiosa.

4°. La membrana nucleare da noi ammessa non esiste, secondo Ziemann. Alcune volte però, soggiunge Ziemann, ho veduto nella zona acromatica un finissimo reticolo. Qualcosa di simile è già stato descritto da noi nel citato lavoro.

([a]) Anche noi avevamo osservato che l' individuo giovane può contenere frammenti di globulo rosso (Grassi e Feletti).

Non farebbe poi meraviglia che la membrana del nucleo col metodo del disseccamento adottato da Ziemann sparisse.

Certo è che già a fresco si può rilevare attorno al nucleo un evidente contorno che permette di parlare di una membrana nucleare (Grassi, Feletti e Mannaberg). Col metodo da noi proposto essa si distingue con sicurezza, benchè *tenuissima*, come l'abbiamo definita fin dal 1890; ma chi può escludere che essa sia una produzione artificiale? La circostanza che il pigmento col nostro metodo non penetra mai dentro il succo nucleare, a mio avviso, può far pensare all' esistenza reale di uno straterello ispessito attorno al nucleo, straterello che, per analogia, dobbiamo interpretare come membrana nucleare per quanto delicatissima.

La presenza di una membrana nucleare sombra anche confermata dalla circostanza che il nucleo, col metodo da noi proposto, pur mantenendosi sferico, rigonfia, il che dimostra che vi penetra acqua.

Debbo inoltre osservare che nei preparati fatti col metodo del Romanowski si trovano non di rado dei grossi parassiti col nucleo sporgente dal protoplasma nel globulo rosso: in questi casi parrebbe proprio che esistesse una tenuissima membrana.

5°. Singolarissima poi è l'opinione di Ziemann che la cromatina nelle semilune scompaia. Per dimostrarne la presenza altri ha dovuto ricorrere ai vapori d'acqua (Sacharoff); e così invece di trattare direttamente il sangue con una soluzione acquosa d' un colore d' anilina, lo si espone ai vapori d'acqua; ma sopra questo argomento tornerò più avanti.

Ciò che ho detto fin qui sulla struttura del parassita trova alla sua volta piena giustificazione in quanto noi sappiamo di altri Protozoi e sopratutto degli Sporozoi.

Specialmente le ricerche di Schaudinn hanno illuminato questo punto. Negli altri Sporozoi ciò che io ho denominato a suo tempo nodetto nucleoliforme viene oggi denominato cariosoma (un tempo si sarebbe denominato nucleolo).

In conclusione io e Feletti abbiamo dimostrato per primi che i parassiti malarici hanno un nucleo d'aspetto vescicolare, il quale trova riscontro in quello di altri protozoi. Ciò viene oggigiorno generalmente ammesso.

Era mio desiderio ristudiare la struttura dei parassiti malarici colle sezioni del sangue e degli organi conservati coi noti metodi citologici invece che col disseccamento. Purtroppo me ne è mancato il tempo; qui mi limito perciò ad alcune osservazioni fatte col metodo di Romanowski.

Nei preparati fatti col metodo di Romanowski qualche volta la cromatina (I. 110) appare nettamente divisa in cromosomi che possono essere disposti in doppio ordine in guisa da far pensare a una doppia piastra equatoriale, e perciò ad un processo di cariocinesi molto semplice, quale presso a poco è già noto in altri Protozoi. In proposito veggansi anche le fig. 4 e 7, tav. I della recente Memoria (3) di Bastianelli e Bignami. Certamente si tratta di stadi intercalati alla moltiplicazione dei parassiti malarici nel corpo dell' uomo. Il loro valore è difficile a stabilirsi. Importa (I. 111) notare che si possono trovare stadi simili in cui i cromosomi di ciascuna piastra sono tra loro fusi assieme o per un piccolo tratto, oppure quasi in totalità. In tutti questi casi si potrebbe pensare sempre ancora, benchè l' interpretazione sia un po' artata, a cariocinesi semplice; ma contro questa interpretazione sta il fatto che in altri casi si

ha una tipica divisione diretta, semplice o multipla, della massa cromatica. Fornisco alcune figure nelle quali questi processi sono evidenti (I. 96-106).

Se si interpreta il corpuscolo nucleoliforme come un unico cromosoma, interpretazione già immaginata da me e da Feletti fin dal 1890, è forse possibile anche in questi ultimi casi di ricondurre il processo a una sorta di cariocinesi primitiva; ma questa interpretazione è collegata a tante altre questioni citologiche, sulle quali tornerò più avanti.

D) Nomenclatura riguardante i vari stadi dei parassiti malarici anche nel corpo dell'*Anopheles*. — Il sopra accennato processo conduce alla ben nota sporulazione scoperta da Golgi. Questo termine di *sporulazione* oggi giorno vuol essere cambiato, come pure sono diventati necessarî altri termini nuovi per gli Sporozoi.

Trovo perciò fin d'ora opportuno proporre questa nomenclatura, attenendomi sopra tutto ad Haeckel, il quale nella sua « Filogenia sistematica » ha introdotto una quantità di neologismi, di cui molti felicissimi. Nel far le mie proposte parto anche dalla considerazione che occorre uniformare, fin dove è possibile, la nomenclatura dei vari stadî evolutivi dei parassiti malarici e degli Sporozoi a quella generale degli esseri unicellulari.

Come ho detto, i parassiti malarici possono riprodursi per generazione neutrale (non sessuale) e per generazione sessuale. Il primo modo di generazione, che è appunto quello che riscontrasi nel corpo dell'uomo, denominasi *monogonia*, l'altro, che riscontrasi nel corpo dell'*Anopheles*, denominasi *amfigonia*.

Queste due sorta di generazione dunque si alternano; si dice perciò che i parassiti malarici presentano la *citometagenesi* (per questo nome vedi pag. 155).

Il processo di *monogonia* si verifica appunto per quella modalità speciale che denominasi *sporulazione*, o più esattamente *sporogonia* ([a]) *conitomica* (per polverizzamento). Schaudinn propose per lo stesso processo il termine *schizogonia* che mi sembra superfluo.

I prodotti della *sporogonia conitomica*, sì nel corpo dell'uomo che in quello dell'*Anopheles*, denominansi già da tempo *sporozoiti* e mi sembra inutile un nome speciale per gli sporozoiti della generazione neutrale quale venne proposto da Simond e da Schaudinn (*merozoiti*).

È più ragionevole la proposta di termini speciali per l'individuo della generazione amfigonica e monogonica. I termini che però io propongo di *mononte* per l'individuo della generazione non sessuata e di *amfionte* per l'individuo della generazione sessuata sono adoperabili anche per gli altri Protozoi oltre che per gli Sporozoi (Schaudinn denomina il mio mononte, *schizonte*, e il mio amfionte, *oocisti* ecc.).

Certi mononti si trasformano in *gameti*, i quali restano sterili nel corpo dell'uomo, e spetta a Mac Callum il merito di aver dimostrato che le cosidette semilune sono appunto gameti.

Io e Dionisi abbiamo per i primi riuniti insieme i fatti noti per altre forme di Emosporidi e conchiuso che anche in esse si formano gameti simili, già noti

([a]) Schaudinn ha cambiato il senso del termine *sporogonia*, ciò che non mi sembra accettabile.

coi nomi di forme adulte non sporulanti, ovvero grossi corpi pigmentati liberi o forme sterili della terzana e della quartana ([a]); la nostra era soltanto un'induzione la cui esattezza successivamente ho dimostrato con Bignami e Bastianelli.

Questi gameti sono di due forme e precisamente nel corpo dell'uomo distinguiamo soltanto una *macrospora* detta anche ooide (macrogamete di Schaudinn) e un *anteridio* (microgametogeno di Grassi, microgametocito di Schaudinn, ecc.).

Una rivista critica di Lühe (53) ed il *Report* (1900) di Ross mi dimostrano la necessità di aggiungere il seguente prospetto della nomenclatura da me proposta, seguendo Haeckel, in confronto a quella proposta da Schaudinn, da Ray Lankester, da Ross seguendo Herdman ed infine da Koch. Per maggiore chiarezza ho aggiunto anche la nomenclatura usata dagli autori precedenti (Marchiafava, Celli, ecc.).

| I. Haeckel-Grassi | II. Schaudinn | III. Ray Lankester | IV. Ross | V. Koch | VI. Autori precedenti |
|---|---|---|---|---|---|
| 1) *Monogonia* (*generazione neutrale*) *per sporogonia conitomica.* | Schizogonie | — | — | Endogene Entwickelung | Sporulazione |
| 2) *Mononte* | Schizont | Oudeterospore (3) | Amoebula or Myxopod — Sporocyste | — | Plasmodio, Ameba |
| 3) *Sporozoito* (*monogonico*). | Merozoit | Nomospore | Spore | — | Spora, Amebula, Gimnospora |
| 4) *Gameti*: *Macrospora* (*o Ooide, o Macrogamete*) | Makrogamet | Gynospore | Gametocyste: Macrogamete | Weibliches Individuum | Forma sterile, degenerante, flagellantesi. Sfera, Sfera libera, Semiluna, Corpi flagellati, Laverania, Grosso corpo pigmentato libero. — |
| 5) *Anteridio* (1) | Mikrogametocyt | — | — | — | — |
| 6) *Microspora* (*o Spermoide, o Microgamete*) | Mikrogamet | Andrespore | Microgamete | Spermatozoon (Männliche Individuum) | Flagello |
| *Anfigonia* (*generazione sessuale*) *per sporogonia conitomica* | Sporogonie | — | — | Exogene Entwickelung | — |
| 8) *Anfionte* (2) (*quando è mobile chiamasi: vermicolo*) | Copula, Ookinet, Oocyste | Gametospore | Zygote | Würmchen und Coccidienartige Kugel | — |
| 9) *Sporozoito* (*anfigonico*). | Sporozoit | Gametoklast or Gametoblast | Blast | Sichelkeime | — |

(1) Nelle Note preliminari usai il termine: *microgametogeno.*

(2) Nelle Note preliminari usai anche il termine *zigote* che ora ritengo superfluo.

(3) *Any spore which is not differentiated so as to be male or female.*

([a]) Celli aveva richiamato molto l'attenzione su queste forme; le aveva descritte anche negli uccelli e le aveva paragonate alle semilune: tutte osservazioni esattissime, delle quali oggi è mutata soltanto l'interpretazione.

E) PARTENOGENESI DEI GAMETI? — Io suppongo che tanto la macrospora, quanto la microspora siano capaci di moltiplicarsi partenogeneticamente (riproduzione verginale) con quelle modalità di riproduzione che sono note coi nomi di *divisione* e *gemmazione*, l'una tanto affine all'altra.

Questi che seguono, sono gli argomenti in favore della mia supposizione ([a]):

I. *Osservazioni dirette.* — La riproduzione partenogenetica è già stata accennata da varî autori, senza che se ne potesse capire il significato.

La prima osservazione, per quanto io so, è stata fatta da me e da Feletti. « Abbiamo trovato a fresco, nel sangue non colorito, delle semilune con nucleo a cifra otto e talvolta nettamente con due nuclei, amendue circondati da pigmento. Qualche rara volta notavasi uno strozzamento della stessa semiluna con due nuclei: allora uno di essi trovavasi al di qua e l'altro al di là dello strozzamento. Queste figure, a nostro parere, preludiano alla riproduzione ». (Vedi anche I. 1).

Il fatto venne confermato da Mannaberg, che ha veduto anche la divisione totale, e ha conchiuso che la moltiplicazione per divisione delle semilune è sicura; ed è stato, infine, osservato pure da Ziemann, che però ha notato ancora uno stretto ponte di riunione tra i due nuovi individui.

Riguardo ai parassiti della terzana e della quartana manchiamo di dati precisi, come pure per le *Haemamoebae* degli uccelli.

Nei gameti quartanari e terzanari è stata però osservata una sorta di gemmazione che potrebbe forse mettersi in rapporto col processo sopradetto. Essa fu notata anche nelle semilune. Osservazioni simili vennero fatte per le *Haemamoebae* degli uccelli (Celli, Sanfelice).

Labbé ha descritto nell'*Halteridium* un processo di sporulazione, il quale non è stato confermato nè da Mac Callum nè da Opie nè da Laveran, e neppure da me; egli è stato evidentemente tratto in inganno da figure simili alla 10*a* del mio lavoro con Feletti. Già nella nostra spiegazione di questa figura si legge che essa sembra una figura di sporulazione, ma in realtà non lo è. *Ci sembra in conclusione che nell'Halteridium siano soppresse le generazioni neutrali.* In esso non fu riscontrato altro modo di riproduzione all'infuori di quello per divisione dei gameti (partenogenesi) ([b]).

II. *Argomenti per analogia cogli Sporozoi.* — Nella *Adelea ovata* (39) Siedlecki ha dimostrato che i gameti, siano di sesso maschile che di sesso femminile, danno luogo a generazioni endogene, che possiamo giudicare con Giard, partenogenetiche. In queste generazioni troverebbero riscontro i fatti soprariferiti.

([a]) In realtà è mia soltanto la forma scientifica della supposizione in discorso, essendo state da alcuni medici già riferite le recidive alle semilune.

([b]) « Nel sangue periferico del piccione, del passero abbiamo trovato *Halteridium* giunti al massimo sviluppo, i quali si strozzavano nel mezzo, venendo così ogni metà ad acquistare una metà del nucleo. Non è raro d'incontrare *Halteridium* simili già divise in due, ogni metà con un nucleo ». (Grassi e Feletti 1890).

Ciò ha confermato recentemente Laveran (27). La figura di divisione fornita da questo autore riguarda un individuo di sesso femminile; egli ha osservato che il nucleo prende la debita parte nel processo in discorso. Ultimamente poi lo stesso autore emise l'ipotesi che anche nel parassita in discorso si verifichino le generazioni neutrali, ma i fatti da lui avanzati per appoggiarla sembrano finora inconcludenti.

Non ci deve sorprendere di trovare in gruppi affini, cioè, come ho detto nell'*Halteridium*, la soppressione di un ciclo di sviluppo. Lo stesso Siedlecki ha dimostrato nella *Benedenia* la soppressione delle generazioni endogene partenogenetiche.

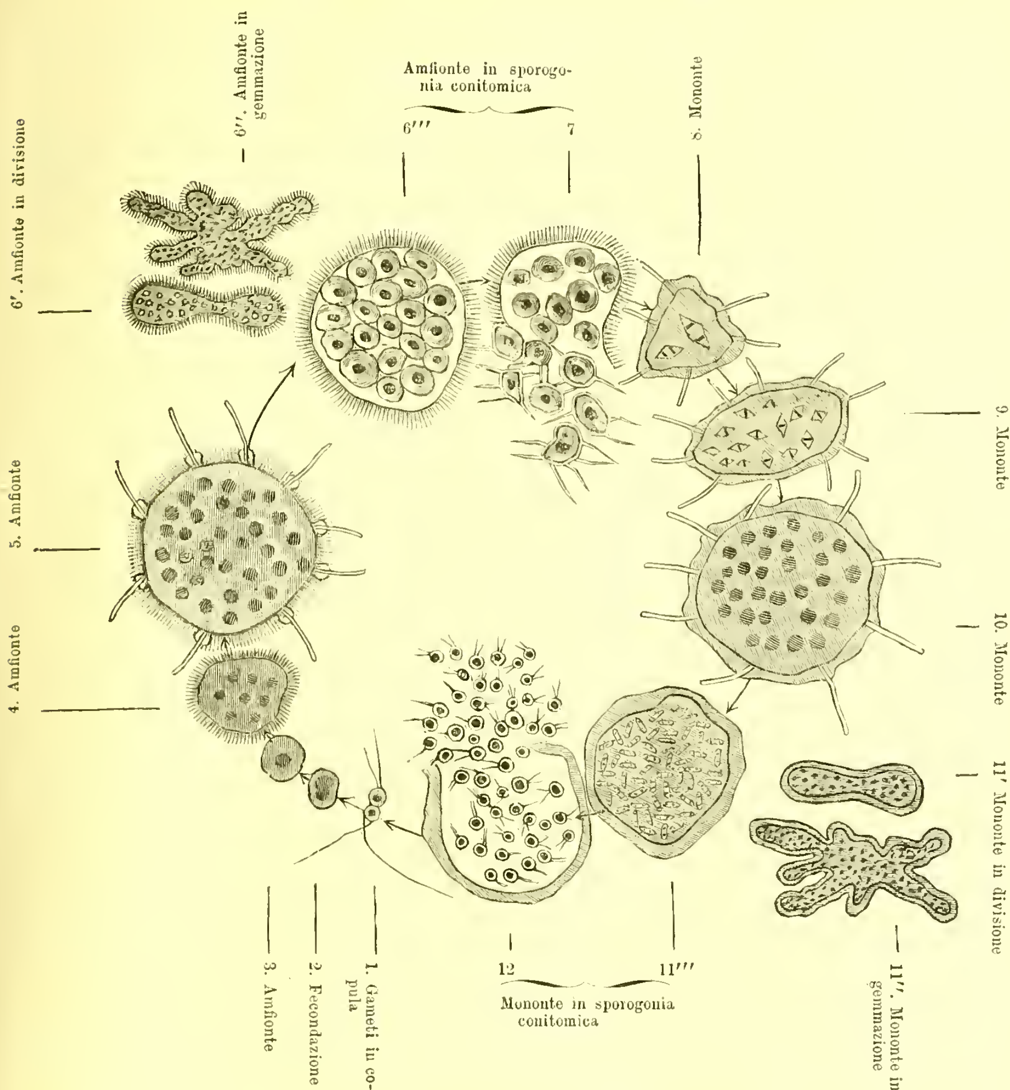



FIG. 8. — *Trichosphaerium Sieboldi*: rappresentazione schematica del suo ciclo evolutivo (secondo Schaudinn).

III. *Argomenti per analogia coi Sarcodini.* — Per ulteriori schiarimenti riporto due schemi, l'uno riguardante i cicli di sviluppo dei parassiti malarici secondo il mio modo di vedere (tav. **A**, dopo pag. 152), e l'altro riguardante un Rizopodo studiato da Schaudinn, il *Trichosphaerium sieboldi* ([a]) (fig. 8).

([a]) Gioverà qui richiamare anche quanto riferisco più avanti a proposito del *Volvox* (pag. 154).

Dallo schema riguardante il *Trichosphaerium* risulta che anch'esso, come i parassiti malarici e come molti altri, e forse tutti i Protozoi, presenta necessariamente il fenomeno della fecondazione (1 e 2) e quindi una generazione amfigonica (3-7) la quale alterna con generazioni monogoniche (8-12).

Nè le generazioni monogoniche nè quelle amfigoniche sono uniformi potendo esse avvenire per divisione, per gemmazione e per sporogonìa conitomica (6′, 6″, 6‴ e 7, 11′, 11″, 11‴ e 12).

Se paragoniamo questo ciclo del *Trichosphaerium* con quello dei parassiti malarici evidentemente risulta che nell' ultimo non sono rappresentate le riproduzioni per gemmazione e per divisione; non ci dovrebbe perciò meravigliare se queste maniere di riproduzione venissero riscontrate anche nei parassiti malarici.

Riunendo tutt' assieme, da una parte i fatti positivi osservati nei parassiti malarici, dall' altra gli argomenti d' analogìa coll'*Adelea*, col *Trichosphaerium* e in generale con tutti gli altri Protozoi, mi permettono di ammettere provvisoriamente l' ipotesi che anche nei parassiti malarici abbia luogo la riproduzione partenogenetica, cioè dei gameti, per gemmazione e per divisione. Probabilmente su questo argomento getterà molta luce lo studio della quartana, nella quale i corpi flagellati sono scarsissimi, mentre i corpi che non si flagellano (macrogameti?) sono molto meno scarsi ([a]).

La mia ipotesi spiegherebbe benissimo il singolare fenomeno delle recidive a lunghi intervalli tanto comuni nella malaria; vale a dire che la generazione partenogenetica si verificherebbe quando gli individui, apparentemente risanati, vengono assaliti da un nuovo accesso febbrile.

La recidiva succede qualche volta dopo un breve intervallo e in questo caso una spiegazione è ovvia ([b]). Non si può dire lo stesso quando la recidiva si verifica settimane od anche mesi dopo l' ultimo accesso febbrile. Per spiegare come possa avvenire tale fenomeno, senza ricorrere all' ipotesi della riproduzione partenogenetica dei gameti, si può ricorrere ad altre due ipotesi: o ammettere che i mononti restino un tempo molto lungo senza progredire nello sviluppo, ciò che sarebbe molto strano, oppure ammettere che cessate le febbri restino ancora nel sangue alcuni mononti, i quali per il piccol numero non si farebbero sentire, ma aumentando poco alla volta, giungerebbero alfine a produrre un nuovo accesso. Questa seconda ipotesi non appare punto verosimile, tuttavia non può essere respinta *a priori*.

Non voglio lasciar l'argomento senza accennare che nel nostro lavoro del 1890 trovo alcune notizie le quali, a mio avviso, possono servire a chi svolgerà ulteriormente l' ipotesi dei gameti partenogenetici:

« È possibile che un individuo apiretico, il quale presenta semilune, guarisca senza che sorvengano mai accessi febbrili. Però abbiamo osservato molte e molte volte, nei casi di febbre a lunghi intervalli, che le semilune aumentavano man mano che si approssimavano nuovi accessi. Qualche volta le semilune diventavano molto abbon-

([a]) Vi sono nella letteratura dei casi di febbre malarica sperimentale prodotta dall' iniezione di sangue contenente soltanto semilune. Occorre ripeterli escludendo qualunque fonte d' errore.

([b]) Vedi gli studi sull' infezione malarica del 1894 di Bignami e Bastianelli. Per ispicgare le recidive a lunghi intervalli essi ricorrono ad ipotetiche spore con membrana.

danti per parecchi giorni prima di questi nuovi accessi, durante i quali diminuivano molto, fino a quasi scomparire del tutto. Appena, in rarissimi casi, vedemmo scomparire le semilune senza che insorgessero accessi febbrili ».

F) Dove e come sviluppano i gameti. — Sotto parecchi aspetti sarebbe importante poter determinare le condizioni in cui si sviluppano i gameti. Fin dai primi momenti in cui cominciai a riflettere su questo argomento mi sorrise l'ipotesi che i gameti si producessero in organi speciali, e a questo riguardo il prof. Marchiafava richiamò la mia attenzione sopra il midollo delle ossa.

Recentemente Bastianelli e Bignami sostennero appunto che i gameti semilunari originassero nel midollo delle ossa; ora io non so se, dopo queste osservazioni, si debba annullare quanto essi scrissero nel 1890 intorno alla formazione dei gameti stessi.

Nel 1890 Bignami e Bastianelli descrivevano la formazione delle semilune come segue:

« Il settimo ed ottavo giorno di malattia nel sangue estratto dalla milza ed eccezionalmente in casi, in cui il reperto parassitario è abbondantissimo, anche nel sangue del dito, si ritrovano corpicciuoli pigmentati ovoidi o fusati endoglobulari, dei quali si può seguire lo sviluppo sino alla semiluna adulta. Mentre il sangue della milza nei primi attacchi febbrili, specialmente se la puntura è eseguita intorno all'inizio dell'accesso, suol dimostrare la presenza di corpicciuoli rotondi endoglobulari con pigmento centrale e di sporulazioni provenienti da questi; dopo un numero variabile di attacchi un certo numero di corpicciuoli con pigmento centrale, in luogo di avviarsi alla sporulazione, assume la forma ovoide o fusata, e si sviluppa fino al corpo falciforme ».

Nel 1899 invece descrivono la formazione delle semilune nel midollo delle ossa, come segue ([a]):

« Le forme più piccole, che possiamo dire con certezza che appartengono alla fase semilunare, sono già pigmentate, anzi contengono relativamente molto pigmento quando il loro volume è di poco maggiore di quello dei piccoli anelli: se dunque la semiluna in principio poco differisce dalla comune ameba, presto si differenzia ed assume caratteri morfologici e biologici particolari.

Da queste forme giovanissime, che possiamo riconoscere con certezza come d'origine semilunare, comincia la nostra descrizione. Sono grandi poco più di un'ameba senza pigmento, o con granulini, hanno contorno netto, rifrangenza più forte e caratteristica: il pigmento è disseminato o raccolto in gruppi di aghi del tipico aspetto di quelli che si vedono nelle semilune adulte. Il pigmento aumenta col crescere del parassita, ma non in tutti gl'individui in quantità eguale, sicchè si hanno infine semilune con molto pigmento, semilune con poco pigmento. Nei preparati colorati (che si possono ottenere sezionando il midollo delle costole una mezz'ora dopo l'esito letale, negli individui morti di perniciosa subito dopo l'ingresso all'ospedale) con

([a]) Essi premettono però che le più piccole tra le forme giovani delle semilune « e in quantità non paragonabile si trovano nel midollo delle ossa soltanto. È giusto dunque ritenere che le semilune (come abbiamo stabilito altrove) si formano nel midollo delle ossa ».

l'ematossolina, il corpo semilunare giovane prende un colorito bleu un po' più forte alla periferia, ed al centro è molto pallido; col metodo di Romanowski il corpo protoplasmatico si colora in bleu pure più intensamente alla periferia e nella parte pallida sta la cromatina in forma di bastoncelli più o meno vicini; questa disposizione della cromatina a cromosomi distinti è costante nelle semilune, mentre nei parassiti dell'altro ciclo solo nelle fasi di moltiplicazione si può riconoscere che la cromatina è fatta di filamenti ».

Già fino dal 1890 io e Feletti notavamo che l'opinione allora espressa da Bignami e Bastianelli ci sembrava fondata sopra un equivoco ed infatti, soggiungevamo: « la semiluna ha il suo pigmento attorno al nucleo, ed invece l'Emameba quando ha il pigmento accumulato al centro, presenta già varî nuclei ».

Io non ho potuto fare altre ricerche sulla sede dove si sviluppano i gameti. Ad ogni modo, dalle ricerche recenti di Bignami e Bastianelli, risulta confermato quanto era già stato ammesso, che gameti semilunari si sviluppano nel midollo delle ossa, dove peraltro si trovano anche mononti in varî stadî di sviluppo tra cui molti adulti. Ciò dimostra con sicurezza che *la produzione dei gameti non è conseguenza dello sviluppo dei parassiti in certi organi, perchè in questi stessi organi si sviluppano anche i mononti proprio contemporaneamente.*

Esclusa pertanto la possibilità di riferire la produzione dei gameti a una peculiare sede, si deve cercare un'altra spiegazione.

Studiando la letteratura, si sarebbe tentati di attribuire la produzione dei gameti ad una certa immunità che l'organismo fino ad un certo punto va acquistando contro la malaria col ripetersi degli accessi febbrili; senonchè molti altri fatti dimostrano che la produzione dei gameti avviene già dopo i primi accessi febbrili, cioè tanto precocemente che non si può ancora parlare d'immunità.

Tutti i fatti finora noti tendono invece a farci credere che la produzione dei gameti o è fenomeno ereditario, come la produzione delle cellule germinative nell'embrione d'un metazoo, ovvero trova la sua ragione nelle condizioni di vita poco favorevoli in cui si trova il parassita. Forse vi contribuiscono tutt'e due queste cause, come dimostra da una parte la suddetta comparsa dei gameti dopo i primi accessi febbrili e dall'altra l'abbondante produzione di gameti semilunari che si verifica quando il chinino viene amministrato in dosi piccole, o quando si usa invece del chinino il fevrolo, il succo di limone, ecc. (Gualdi e Martirano).

Anche riguardo al modo di produzione dei gameti esistono molte incertezze. Bignami e Bastianelli hanno descritto la produzione dei gameti semilunari, come sopra si è detto, in due modi differenti nel 1890 e nel 1899. L'ultimo modo a tutta prima sembra il più probabile; ma se si paragonano le figure della Tav. II della Memoria di Marchiafava e Bignami (31) con quelle della Tav. I del recente lavoro di Bastianelli e Bignami, il criterio della quantità di pigmento (rileggasi il principio della citazione) sembra non del tutto certo, ed io credo che l'argomento richieda nuove ricerche.

Che nel primo momento di vita del parassita siavi già una differenza tra il mononte e il gamete non è ammissibile, mancando qualunque prova diretta o indiretta. Forse il differenziamento può cominciare in differenti stadî; certamente avviene durante la fase vegetativa e non è più possibile quando è cominciata quella riproduttiva.

G) Come si riconoscono i gameti. — Mentre i gameti del *Plasmodium praecox* per la loro forma semilunare sono facilmente differenziabili dai mononti, riesce difficile distinguere quelli della terzana e della quartana e praticamente si è assolutamente sicuri di aver sott' occhio dei gameti soltanto quando si vedono uscir fuori gli spermoidi (flagellarsi), ovvero si trovano dei corpi grandi, persistenti senza segmentarsi non ostante il succedersi degli accessi febbrili o la mancanza degli accessi stessi. A fresco, servono, non sempre forse, con tutta la sicurezza desiderabile, altri criterî che accenneremo più avanti nella descrizione delle singole specie dei parassiti malarici umani. Nei preparati coloriti col metodo di Romanowsky le incertezze mi sembrano maggiori. Il dott. Martirano recentemente fece molti preparati di un sangue terzanario ricchissimo di parassiti: le forme che secondo le fig. 19 e 21 della tav. II di Bastianelli e Bignami (1899) dovevano giudicarsi gameti, erano molto abbondanti: nessuna invece si flagellò per quanto usasse tutte le cautele desiderabili.

In base alle ricerche di Celli, Dionisi ecc. ritengo che si possa giudicare gamete ogni parassita grande che ha consumato tutto il globulo rosso, senza entrare nella fase riproduttiva.

Tenendo presenti le accuratissime ricerche di Ziemann, sorge spontanea la supposizione che si debbano ritenere gameti maturi le forme nelle quali non si riesce a colorire la cromatina col metodo di Romanowski, senza ricorrere a speciali artifici (esporre il sangue al vapore acqueo, esaminarlo poco dopo che è stato succhiato dall'*Anopheles*, ecc.) (I. 109). (I. 108 rappresenta un gamete quasi maturo?).

I gameti sono di due sorta: maschili e femminili, ossia anteridi o microsporociti, e macrospore. Essi si differenziano per la quantità di cromatina che è molto maggiore negli anteridi (I. 2 e 4); in questi il protoplasma pare meno denso.

H) Caratteri zoologici delle singole specie. — Come ho detto precedentemente nella parte storica, distinguiamo nell' uomo per lo meno tre parassiti malarici. I caratteri di questi parassiti meritano di essere brevemente riassunti.

## *Plasmodium malariae.*

Quando è piccolo, emette lentamente pseudopodi di solito lunghi e sottili. Le correnti protoplasmatiche (indicate dai corpuscoli di pigmento) sono torpide o non rilevabili; il pigmento risulta di granelli grossolani, o di bastoncelli: è di colore bruno oscuro.

A poco a poco questo mononte ingrandisce, aumentando anche la quantità di pigmento, e perde la mobilità presentandosi perciò costantemente loboso dapprima e poi tondeggiante. Esso produce di solito 9-12, talvolta soli 6, tal altra perfino 14 sporozoiti.

Invade quasi tutto il globulo rosso senza deformarne la parte periferica, che conserva il suo colore naturale e le sue dimensioni.

Il suo ciclo evolutivo fino alla sporogonia richiede 72 ore.

Questo ciclo compiesi nel sangue circolante senza che i parassiti si accumulino di preferenza nel letto vasale di alcuni visceri; lo si può perciò seguire facilmente anche studiando soltanto il sangue estratto colla puntura del dito.

Gameti scarsi, rotondi, distinti dai mononti adulti sopratutto per la grande mobilità del pigmento: sono di varie grandezze, da meno di un globulo rosso a due volte lo stesso ([a]).

La specie in discorso è causa della quartana.

### *P. vivax.*

Si distingue specialmente per i movimenti ameboidi più vivaci anche nelle forme ingrandite; le correnti protoplasmatiche sono pure più vivaci; i corpuscoli di pigmento sono più fini, più granellosi e di color bruno più chiaro che nel *P. malariae.*

Questo mononte produce di solito 15-20 sporozoiti.

Il globulo rosso che è invaso, di solito si rigonfia e scolorisce. Può venire tutto invaso.

Ciclo in 48 ore.

Nonostante che i mononti adulti, o in sporogonia avanzata tendano ad accumularsi nella milza, può tuttavia seguirsi tutto il ciclo studiando il sangue estratto dal dito.

Gameti piuttosto abbondanti, rotondi, distinti dai mononti adulti per il pigmento a granelli più grossolani, o a forma di bastoncelli e per il movimento di solito molto più vivace del pigmento stesso. Possono raggiungere la grandezza di due-tre volte un globulo rosso ([b]). Non si distinguono da quelli del *P. malariae* (Ziemann).

È causa della terzana.

### *Laverania malariae.*

Si distingue questa specie perchè è più piccola delle altre, sicchè il mononte adulto tutto al più raggiunge la metà circa del globulo rosso, e la forma in sporogonia ha un volume variabile, ma che non supera i due terzi del globulo rosso.

Quand'è in riposo, sembra spesso di forma annulare ed ha contorni più netti del parassita della terzana, in modo che spicca più chiaramente sul globulo rosso.

Fa vivaci movimenti ameboidi. Il pigmento di raro presentasi in movimento: esso è in granuli finissimi, o di moderata finezza, e relativamente scarso; si dispone per lo più sul margine del parassita.

Il globulo rosso tende a rimpicciolirsi, a raggrinzarsi, mentre il colore dell'emoglobina si fa carico. Talvolta questi fenomeni sono spiccatissimi.

Gli sporozoiti sono più piccoli che nelle altre forme e di solito meno numerosi (7, 10, 12, raramente 15-16).

Ciclo di durata non ben stabilita perchè i mononti adulti e in sporogonia si accumulano nei vasi di alcuni visceri tanto che si riscontrano difficilmente nel sangue periferico e talvolta mancano affatto. Probabilmente compiesi in 48 ore.

Gameti semilunari col pigmento disposto per lo più attorno al nucleo invece che sparso per il corpo ([c]).

([a—b]) Arrivati ad una certa grandezza non mostrano più traccia del globulo rosso.

([c]) A questo riguardo riporto due righe della mia Memoria con Feletti (1890): « Che le semilune siano invece forme degenerate e sterili è una ipotesi contro la quale parla il loro nucleo, la loro forma caratteristica e tutto quanto noi sappiamo dalla storia naturale degli esseri ».

Produce essenzialmente una terzana ad attacchi molto prolungati; essa viene accompagnata spesse volte da fenomeni perniciosi, non però in tutte le località (terzana maligna, quotidiana e febbri estivo-autunnali di Marchiafava e scolari; bidua e quotidiana di Baccelli; tropica di Koch ecc.).

## 2. L'Amfionte nell'Anopheles.

Seguiamo ora il parassita malarico nell'intestino dell'*Anopheles*, prendendo come tipo la *Laverania malariae* (detta comunemente *forma semilunare*). Quanto alla nomenclatura, mi riferisco a ciò che ho detto a pag. 121.

Debbo qui premettere che nel precedente lavoro da me pubblicato con Bignami e Bastianelli (7), si trovano molte notizie sulle forme che i parassiti assumono nel corpo dell'Anofele: il presente lavoro le completa in non pochi punti e le sviluppa in modo speciale per quanto riguarda la fina struttura. Sui primi stadî però io ho pubblicato una Nota, una Memoria e una Nota hanno pubblicato Bignami e Bastianelli: confrontando i nostri lavori il lettore noterà le divergenze.

A) L'Amfionte nel lume dell'intestino. — Come io per primo con Dionisi ho indotto e come poi ho dimostrato con Bignami e Bastianelli, nell'intestino dell'*Anopheles* non si sviluppano che i gameti.

Nel lume dell'intestino gli anteridi producono le microspore, le quali fecondano le macrospore.

Il fenomeno della fecondazione peraltro può essere sorpreso anche sotto al microscopio osservando il sangue a fresco: ciò è stato verificato per la prima volta da Mac Callum.

D'estate si osserva facilmente che i gameti bidui in gran parte diventano rotondi.

Un certo numero di queste forme diventate rotonde (anteridi) si flagella, cioè si fornisce di alcuni flagelli (4-6, raramente 7), che si dipartono da un corpo rotondo e più piccolo degli altri corpi rotondi non flagellatisi: in essi il pigmento appare sparso.

Col metodo di Romanowski è facile persuadersi che alla produzione dei flagelli è preceduta la moltiplicazione diretta del nucleo ([a]) e che nei flagelli si trova molta cromatina. Questi flagelli sono in realtà delle microspore (I. 5 e 6), che si distaccano via dal corpo che le ha prodotte e si muovono in mezzo ai corpuscoli sanguigni.

Altri corpi diventati rotondi, invece di presentare il pigmento sparso, lo conservano in generale nella posizione che aveva quando erano ancora semilunari, cioè disposto apparentemente ad anello. Questi corpi non si flagellano, e sono le macrospore (ooidi); il loro nucleo (I. 2 e 3) si conserva qual era nella forma semilunare.

([a]) Già fin dal 1890 io e Feletti notavamo che il nodetto nucleoliforme delle semilune in alcuni casi è piccolo, in altri relativamente grande, in altri accenna a dividersi in due o si è già diviso ed in altri infine si è diviso in quattro. Ciò è stato da noi osservato col nostro metodo e quindi si riferisce a condizioni delle semilune verificantisi nel sangue circolante; la qual cosa dimostra che macrospore e anteridi sono già distinti, come ho detto, nel sangue circolante nel corpo dell'uomo, e che quivi è già iniziata la formazione delle microspore.

Qualche volta si osserva l'emissione dai corpi rotondi di piccole masse di cromatina che farebbero pensare a corpuscoli polari e a fenomeni di riduzione della cromatina: io l'ho peraltro osservata sì nelle macrospore che negli anteridi, in preparati tenuti in camera umida. Considerando le molte anomalie che in questi preparati presenta la formazione delle microspore, non mi credo autorizzato a considerare la suddetta emissione come normale.

Come ha scoperto Mac Callum, le microspore girano attorno, finchè si avvicinano a una macrospora: una vi penetra dentro in una parte, dove si scorge un piccolo cono d'attrazione, e produce un vivo movimento del pigmento. Quando una è entrata dentro, nessun' altra viene accettata, così che, se si trovano altre microspore in vicinanza, si vedono urtare invano contro la macrospora fecondata.

Questi fatti si possono verificare sul sangue fresco da 20 minuti a 1 ora dopo che il preparato è stato allestito.

Pochi istanti dopo entrata la microspora, il pigmento diventa immobile e la macrospora fecondata, che prende il nome di *copula* o di *zigote*, o, con termine più generale, di *amfionte* subisce uno sviluppo che si può dividere in due periodi: il primo libero dentro il lume dell'intestino, il secondo nello spessore della tunica elastico-muscolare dell'intestino stesso. Durante il primo periodo l'amfionte da tondeggiante si trasforma nel così detto *vermicolo* (*oocineto* di Schaudinn); questa trasformazione si presenta nelle sue varie fasi osservando il sangue estratto dall'intestino dell'*Anopheles* per es. 10 o 12 ore dopo che è stato succhiato.

Facendo il preparato nelle soluzioni sopradette di formalina, di cloruro di sodio, di cloruro di sodio e albume, a fresco si vedono molte forme che fanno pensare alle larve dei Trematodi vedute a piccolo ingrandimento. Ve ne sono di quelle che hanno figura di miracidio, altre che hanno figura di sporocisti, altre infine che hanno figura di cercaria. Si tratta certamente di amfionti già divenuti o in via di divenire vermicoli (III. 1). Nel sangue succhiato da 28 a 40 ore ([a]) si trovano soltanto i vermicoli (III. 2).

I più giovani tra gli stadî di formazione dei vermicoli sono quelli che, continuando il confronto colle larve dei trematodi, hanno la forma di cercaria; constano, cioè, di una massa globosa, fornita di coda. In essi il pigmento è più, o meno sparso.

Nei preparati fatti col metodo di Romanowsky si riscontrano questi stessi stadî. Io ho figurato una serie di forme (I. 7-11, 13) conducenti appunto a quella di cercaria (I. 12). È notevole il fatto che mentre nei preparati a fresco, come sopra si disse, il pigmento si presenta più o meno diffuso per il corpo, invece nei preparati col metodo di Romanowsky appare raggruppato; credo che ciò dipenda dal metodo di preparazione.

A fresco si veggono dei vermicoli quasi uniformemente allargati in tutta la loro lunghezza e altri che si presentano a un'estremità più assottigliati che all'altra. Per quanto io ho veduto, quelli uniformi (III. 2*a* e *c*) sono più adulti degli altri: essi sono in generale più lunghi e relativamente sottili; la massima lunghezza da

([a]) Sperimenti fatti nel colmo dell'estate in una camera a tramontana, ma punto riparata dal caldo.

me osservata è di 20 micron. Il pigmento nei preparati a fresco è di solito sparso per il corpo; talvolta invece è quasi limitato ad una metà di esso o anche raggruppato. Nei preparati fatti col metodo di Romanowsky la gran maggioranza delle forme presenta una metà più sottile dell'altra; la parte più sottile termina per lo più ottusa, mentre la parte più grossa presenta all'estremo, in generale, una breve punta. A questo estremo si trova di solito ammassato il pigmento. Si ripete perciò quella stessa differenza che sopra ho accennato per i vermicoli ancora in via di formazione (I. 22-28, 29 ecc.). Certi vermicoli adulti a fresco si presentano nettamente fusiformi (III. 2 *b*). Nei vermicoli si trova per lo più un vacuolo.

Gli amfionti fecondati di recente e in via di trasformarsi in vermicoli, ovvero già trasformati (I. 7, 8, 9, 14 e seg.) possono presentare due nuclei che si colorano anche differentemente e di cui uno può rassomigliare al nucleo della macrospora. Sorge perciò spontanea l'interpretazione di uno di questi due nuclei come nucleo femminile e dell'altro come nucleo maschile; disgraziatamente il metodo di Romanowsky imperfetto da un lato, dall'altro lato l'estrema piccolezza dell'oggetto, non mi permisero di approfondare ulteriormente l'argomento. Forse si potrà ciononostante venire a una conclusione, impiegando in tali ricerche un tempo maggiore di quello che io ho potuto dedicarvi.

Dall'esame di molti preparati sono stato indotto a ritenere che la fusione dei nuclei maschili e femminili avvenga in stadî varî dal principio fino alla completa formazione del vermicolo e che in questi stadî si verifichino anche dei fenomeni di riduzione della cromatina.

Le sezioni di intestini di *Anopheles* uccisi 32 ore dopo che si erano nutriti (I. 31), mi hanno mostrato i vermicoli sotto forme che trovano riscontro in quelle or ora descritte; soltanto apparivano più piccoli, e il pigmento era per lo più in gran parte raggruppato verso un estremo e sparso in piccola parte nella metà corrispondente del vermicolo. Sono notevoli certe forme con tutti e due gli estremi molto assottigliati.

Ho potuto osservare che il vermicolo fa dei movimenti di progressione. Nell'estremità che resta anteriore il pigmento può mancare o essere più scarso. Il vermicolo si curva, si distende e fa anche dei movimenti di rotazione per quanto io ho veduto imperfetti: del resto i movimenti sono difficili a verificarsi anche usando tutte le cautele, tra cui principale è la diluizione del sangue tolto dall'intestino dell'*Anopheles* colla soluzione di cloruro di sodio e albume.

Koch crede che il vermicolo esca fuori dal corpo rotondo lasciando indietro una capsula e tutto il suo pigmento; più tardi formerebbe nuovo pigmento. Soltanto nei preparati per strisciamento a fresco a me è accaduto (parlo dei parassiti umani) di trovare qualche rarissima volta dei vermicoli senza pigmento (I. 26). Si potrebbe spiegare questa divergenza considerando che Koch ha sperimentato non coi parassiti dell'uomo, ma con quelli degli uccelli, che potrebbero comportarsi in modo differente; io però ritengo che nei suoi preparati, per condizioni sfavorevoli, i vermicoli abbiano abbandonato il loro alimento, come può accadere in altri Protozoi.

Ciò risulta fino ad un certo punto dimostrato confrontando le ricerche di Koch con quelle di Mac Callum. Infatti Koch ha visto i vermicoli far soltanto dei piccolissimi movimenti (lentissimo estendersi e curvarsi, lente rotazioni). Mac Callum in-

vece nei vermicoli della stessa specie, ma che a differenza di quelli ottenuti da Koch avevano conservato il pigmento, ha osservato un movimento di locomozione (l'estremità senza pigmento resta anteriore) facilmente superante ostacoli; ha inoltre veduto i movimenti di rotazione e una sorta di movimento peristaltico producente delle contorsioni veramente considerevoli. I vermicoli perciò osservati da Mac Callum erano senza dubbio in condizioni migliori di quelli studiati da Koch.

B) L'amfionte dentro la parete dell'intestino fino alla sua maturanza. — Quando la digestione nell'intestino medio è avanzata, i vermicoli cominciano a entrare nella parete intestinale, sebbene io ne abbia trovati di liberi ancora, quando l'intestino era già vuoto. Come penetrino, è molto difficile poterlo osservare; sui tagli è tuttavia possibile trovare dei vermicoli nel margine cuticolare dell'epitelio (I. 31) od anche nello spessore dell'epitelio o alla base di esso (III. 38).

Prontamente, cioè prima che siano passate 40 ore dal succhiamento del sangue, si possono trovare già alcuni individui nello spessore della tunica che denomineremo elastico-muscolare È molto difficile formarsi un concetto di questa tunica e quindi della posizione precisa occupata dai parassiti.

Certo è che la parete intestinale dell'*Anopheles* consta di uno strato epiteliale interno ([a]) e di uno strato amorfo esterno; questo strato amorfo deve essere elastico per potersi adattare alle varie condizioni di riempimento, o meno, dell'intestino.

Esistono inoltre delle fibre muscolari le quali peraltro non formano uno strato continuo. Esse sono circolari (interne) e longitudinali (esterne); le circolari in complesso sono più sviluppate delle longitudinali. Queste due sorta di fibre vengono a formare una rete a maglie larghe.

È un fatto che a tutta prima sorprende il poter facilmente isolare lo strato amorfo insieme con la rete muscolare senza che le fibre si spostino.

Ma lo studio, delle sezioni dà spiegazione del fatto. Le fibre muscolari sono in realtà immerse nello strato amorfo e, come ho detto, elastico, che presenta perciò degli ispessimenti in rapporto con le fibre muscolari ([b]). Da ciò la suddetta denominazione di *tunica elastico-muscolare*. (Io non ho avuto tempo di approfondire questa interessante questione istologica che sarà oggetto di ulteriori ricerche da parte di Noè).

Gli stessi rapporti che hanno le fibre muscolari collo strato amorfo vengono assunti dagli amfionti (II. 27*a*, 27*b*, 27*c* e III. 39). Essi si sviluppano nello spessore della tunica elastico-muscolare che fornisce loro un'ottima capsula. Che questa capsula sia ottima lo induco dalla circostanza che attraverso la tunica elastico-muscolare passa tutto il chilo preparato nell'intestino e che questa tunica non è sfornita di trachee.

([a]) Vedi pag. 73, ove parlo anche di una sottilissima e difficilmente distinguibile membranella basilare amorfa tra l'epitelio e la tunica elastico-muscolare.

([b]) Nel tessuto muscolare liscio dei vertebrati è stata notata l'abbondanza di fibre elastiche e anche la formazione di tendini elastici. — Le fibre muscolari dell'*Anopheles* sono, come negli altri insetti, striate e ramificate; al punto dove s'incontrano una fibra muscolare longitudinale ed una circolare, a fresco rilevasi una figura che interpreto come una lacuna nello spessore dello strato amorfo elastico. Una tunica elastico-muscolare simile a quella dell'*Anopheles* è già stata descritta in altri Insetti.

L'amfionte, dunque, non si circonda di una capsula (citecio) propria, sibbene di una capsula amorfa avventizia fornitagli dall'oste.

Questa singolare disposizione spiega perchè in nessun caso si osservi mai il distaccarsi dei parassiti dalla parete intestinale, anche quando, come dirò più avanti, sporgano molto e apparentemente vi aderiscano per breve tratto che può assumere anche la forma di peduncolo.

A lungo ho supposto che la capsula fosse propria del parassita; ma ho dovuto rinunciare a questa opinione dopo di aver veduto molti tagli, nei quali si poteva stabilire con sicurezza la continuità tra la capsula del parassita e la tunica elastico-muscolare, e dopo di aver determinato che la capsula si comporta colle sostanze coloranti, nello stesso modo con cui si comporta la parte amorfa della tunica.

Una volta in amfionti di media grandezza ho potuto fare osservazioni sull'aspetto della capsula. Ho veduto che alla superficie, cioè sulla faccia esterna, si presentava finissimamente punteggiata (III. 7 *d*); alla faccia interna, invece, cioè tangente il parassita, si presentava come fornita di tante creste in parte riunite a reticolo (III. 7 *c* e *b*).

Il significato di questa disposizione vuol essere oggetto di nuove ricerche.

Aggiungasi infine che lo spessore della capsula non cresce spiccatamente col crescere del parassita, e che in qualunque stadio essa si mantiene sempre trasparente.

Giacchè sto occupandomi della posizione occupata dal parassita, completerò l'argomento supponendo che il lettore già conosca quello che dirò più avanti, che, cioè, il parassita diventa relativamente molto grosso stando sempre nella posizione indicata. In generale si osserva che man mano che ingrossa, va, per dir così, isolandosi dalla parete intestinale, sporgendo fuori di essa nella cavità generale dell'animale occupata dall'organo adiposo e dall'ovario. A questo riguardo però si noti che probabilmente tra gli organi or nominati e l'intestino esiste una lacuna sanguigna che permette di isolare l'intestino senza che nella grande maggioranza dei casi vi resti attaccata alcuna cellula adiposa (II. 27 *a*, 27 *b* e 27 *c*).

Non è raro che qualche parassita si sviluppi sporgendo pochissimo esternamente. In questo caso, come dimostrano i tagli, esso fa anche una sporgenza interna, cioè verso il lume dell'intestino (III. 40).

In corrispondenza all'amfionte, sopratutto in quest'ultimo caso, l'epitelio intestinale si presenta appiattito; e questo appiattimento appare maggiore o minore a seconda che l'intestino è disteso o contratto, e perciò a seconda che l'epitelio dell'intestino in generale si presenta basso (intestino disteso), o alto (intestino contratto).

Da quanto ho detto risulta evidente che di regola l'amfionte ingrandisce facendosi posto in mezzo all'organo adiposo, o anche spostando l'ovario.

Gli amfionti non invadono indifferentemente tutto l'intestino medio; essi si limitano alla parte dilatata, anzi ne occupano soltanto i due terzi posteriori; raramente se ne trova qualcuno più avanti. Qualche volta eccezionalmente sono più abbondanti nel terzo medio che nel terzo posteriore.

Lasciando in disparte questi casi eccezionali si può dire che stanno in quella parte d'intestino medio nella quale si trovano raccolti i corpuscoli sanguigni succhiati dall'Anofele (pag. 74).

Il numero degli amfionti in un singolo Anofele può essere superiore a cinquecento. Si vedono in questo caso qua e là addossati gli uni agli altri come dimostra la figura (III. 40).

L'amfionte di recente entrato nella parete intestinale conserva i caratteri che presentava, quando era ancora nel lume dell'intestino (I. 32; si osservi il parassita in basso a sinistra). Prontamente diventa quasi fusato, ovalare, o tondeggiante (I. 32 e III. 3 *a*, *b*, *c*, *d*). I più piccoli individui già ovalari, da me riscontrati, avevano l'asse maggiore di circa 5 $\mu$ e quello minore di circa 4 $\mu$. Crescendo acquistano in generale la forma tondeggiante, ma qualche volta restano ovalari, diventano appiattiti, ecc.

La grandezza massima a cui arriva il parassita varia entro limiti molto estesi; i più piccoli individui maturi da me osservati avevano un diametro di circa 30 $\mu$; raramente il diametro supera i 60 $\mu$. Io ne ho veduto uno di 70 $\mu$ e un altro di quasi 90. Queste misure sono state fatte a fresco, nella soluzione di albume e cloruro di sodio; nella soluzione di formalina i parassiti rigonfiano molto.

In uno stesso *Anopheles* si possono trovare individui della stessa età e di differenti grandezze. Negli *Anopheles* che sono stati poco nutriti durante lo sviluppo dei parassiti, questi in generale mi apparvero più piccoli.

*
* *

Veniamo ora allo studio minuto dell'amfionte dentro la parete intestinale.

Esso è molto trasparente, incoloro, se si eccettua il pigmento di cui parlerò più avanti, e delicatissimo; ricorda le uova trasparenti di molti animali marini. Si altera con grandissima facilità ancorchè si osservi l'intestino in liquidi cosidetti indifferenti. Molte volte, nei primi istanti in cui facevo le osservazioni servendomi di liquidi indifferenti, i parassiti, anche maturi o quasi, erano così trasparenti che io non rilevavo in essi alcuna struttura; essa si distingueva soltanto dopo pochi secondi.

Aggiungasi che si verificano senza dubbio molte differenze individuali.

Infine ho ragioni di ritenere che, a seconda dei varî stadî di digestione in cui si trova l'*Anopheles*, i parassiti si presentino con aspetti diversi: ciò ch'è, del resto, naturale quando si consideri la posizione, che ho descritta, dei parassiti.

Per le esposte ragioni si comprende che, mentre riesce facile osservare i parassiti nei loro differenti aspetti, è difficilissimo eseguire dei disegni che li rappresentino senza che sieno alterati. Sopratutto è difficile stabilire se vi siano, o no vacuoli e come essi siano fatti.

Nelle figure non colorite annesse al mio lavoro ho rappresentato varî stadî copiati il più rapidamente possibile da preparati a fresco nella miscela di formalina e cloruro di sodio (III. 5, 6, 7, 9 e 10); altri disegni invece mostrano come si presenta il parassita osservato colla maggior rapidità possibile nella soluzione di cloruro di sodio (III. 8), e nella formalina (III. 4 e 11).

Il parassita osservato nella soluzione di cloruro di sodio e albume, specialmente nei primi istanti, spesse volte appare omogeneo; altre volte mostra un accenno di vacuoli numerosi e piuttosto grandi, ovvero un accenno di pochi vacuoli, molto grandi. Un sottile strato periferico, con qualunque reagente, appare più denso, come l'ectoplasma di molti protozoi (III. 4-11). Quando abbiamo stadî avanzati possiamo osser-

vare gli sporozoiti, che sono tanto più evidenti quanto più sono sviluppati (III. 12 e 13 *a* e 13 *b*). Questi sporozoiti appaiono raggruppati quasi parallelamente in tante serie disposte in vario ordine. Evidentemente lo strato superficiale è in generale tutto formato di sporozoiti. Nell'interno, però, essi lasciano vuoti degli spazi svariati che per lo più appaiono tondeggianti. In uno stadio, che ritengo il più maturo, gli sporozoiti assumono una posizione quale presso a poco prenderebbero se fossero trascinati da una corrente rotatoria; per lo più verso il centro si notano alcune masse speciali già ben note negli sporozoi col nome di masse residuali (III. 14).

Osservando il parassita nella soluzione di cloruro di sodio, qualche volta appare indistintamente granuloso (III. 8).

La diluzione di formalina rende molto vacuolizzato il parassita (III. 11). Nei primi stadî fa molte volte spiccare un peculiare vacuolo la cui esistenza ritengo normale (III. 4 *c*, 4 *d* e 6). Negli stadî avanzati, ma non maturi, specialmente la formalina produce fenomeni osmotici tumultuosi che alterano profondamente il parassita. (Vedi pag. 161).

Ho dato anche alcune figure di preparati ottenuti conservando l'intestino col sublimato e poi passandolo in alcool e finalmente montandolo in glicerina. Tranne la perdita della trasparenza i parassiti mi apparvero ben conservati (III. 29-32).

A fresco si possono rilevare nel corpo dell'amfionte due sorta di inclusioni: corpuscoli di pigmento e corpuscoli plasmatici.

I corpuscoli plasmatici sono (III. 8, 10, 11 ecc.). splendenti, molto rifrangenti, per lo più tondeggianti, di varia grandezza, ma sempre molto piccoli, benchè maggiori dei granuli di pigmento: i più grandi superano di poco 1 $\mu$ In complesso compaiono molto precocemente; sono pochissimi; crescono di numero man mano che il parassita ingrandisce, ma si mantengono sempre scarsi: talvolta sono riuniti a due a due; qualche volta possono anche mancare. Li ho osservati ancora quando il parassita era poco lontano dalla maturanza, o maturo.

Il pigmento, che il parassita ha portato seco entrando nella parete intestinale, è per lo più visibile in qualunque stadio di sviluppo del parassita (III. 4, 5, 6, 7, 9, 10, 32 ecc.).

Nei primi stadî si trova nettamente vicino alla superficie, non di raro immediatamente sotto quella parte che sembra ectoplasma. In questi stadî esso presenta per lo più una disposizione tipica: è riunito di solito in gruppetti più o meno nettamente quadrangolari i quali presentano nel loro insieme ora la figura di un cerchio, ora quella di un semicerchio, qualche volta la figura di una lettera ti maiuscola; qualche rara volta invece il pigmento si presenta quasi raccolto in una massa.

Negli stadî successivi il pigmento appare per lo più molto fino, più o meno scolorito, ridotto di quantità e qualche volta non si trova più. Esso si presenta più o meno scostato dalla superficie, qualche volta poco lontano dal centro.

*
* *

Passiamo allo studio dell'amfionte sezionato e colorito.

Questo studio è veramente molto arduo per le seguenti ragioni:

1° difficoltà di procurarsi il materiale in una certa quantità quale è necessaria per sperimentare comparativamente i varî metodi di conservazione;

2° prontissima alterazione profonda del parassita nei mezzi che ordinariamente si mostrano quasi indifferenti (vedi sopra);

3° differente modo di presentarsi dei parassiti ancorchè conservati collo stesso metodo; ciò che è riferibile in parte a variazioni individuali, in parte, come già si è accennato, alle condizioni differenti di digestione dell'oste e quindi anche del parassita, nonostante che questo si nutra soltanto di sostanze liquide;

4° difficoltà di colorire i nuclei, estrema loro piccolezza, donde la necessità di fare sezioni anche di 1 $\mu$ e meno, ecc.

Per dare un'idea delle alterazioni e precisamente dell'enorme vacuolizzazione che si verifica nei preparati previamente trattati colla formalina, ho riprodotto (I. 71) una figura tolta dal lavoro da me pubblicato con Bignami e Bastianelli: pare di aver sott'occhio un essere del tutto differente da quelli che or ora descriveremo.

In complesso mi hanno dato poco buoni risultati il liquido di Flemming e il sublimato acetico; anche questi liquidi producono dei rigonfiamenti notevoli. I migliori risultati me li ha forniti indiscutibilmente il sublimato col cloruro di sodio, benchè anche con questo metodo di conservazione qualche volta abbia avuto prove evidenti di alterazioni, prodotte, invece che da rigonfiamento, da raggrinzamento.

Non credo perciò che i miei preparati mi permettano di interloquire nella questione della struttura del protoplasma nonostante che abbia avuto sott'occhio i più begli alveoli, e non poche volte.

Avendo confrontato criticamente i risultati ottenuti coi varî metodi, io sono in grado di fornire una descrizione dello sviluppo del parassita che molto si avvicina alla realtà.

L'amfionte arrivato nella tunica elastico-muscolare presenta un solo nucleo. In seguito a numerose *divisioni dirette*, questo amfionte forma un enorme numero di sporoblasti che si trasformano direttamente in sporozoiti (I. 59): secondo i calcoli da me fatti un amfionte può sviluppare più di diecimila sporozoiti; il loro numero però è molto vario a seconda della grandezza massima dell'amfionte, della quantità delle masse residuali, dei vacuoli che si sviluppano nel parassita, ecc. In certi casi il loro numero certamente si riduce perfino a poche centinaia.

Il processo che dà luogo alla formazione degli sporozoiti è, almeno nelle sue linee generali e fino a un certo punto, facile a comprendersi, tenendo sott'occhio le molte figure annesse al mio lavoro. Le difficoltà sorgono quando, come qui tentiamo di fare, si voglia scendere a minuti particolari, trattandosi di un processo, che non si può seguire direttamente, ma soltanto ricostruire per mezzo di confronti e combinazioni di molti stadî, i quali si presentano senza ordine determinabile.

Cominciamo a descrivere una sorta di nucleo caratteristico (lo denomino *nucleo della prima sorta*) che si può riscontrare nell'amfionte ancora uninucleato e negli amfionti giovani che presentano già alcuni nuclei o anche molti (I. 72-75 ecc.). Quando i nuclei sono più di uno la struttura caratteristica di cui parlo può trovarsi in un nucleo solo, oppure in un certo numero di nuclei o fors'anche in tutti.

Questo nucleo della prima sorta, benchè ben delimitato, non presenta una membrana distinguibile con sicurezza. Una gran parte di esso, maggiore o minore a seconda dei varî casi, viene occupata da un corpo speciale che denominerò, come nei mononti (parassiti malarici dentro il corpo dell'uomo), *nodetto nucleoliforme*. Da

questo nodetto, che presenta una figura più o meno spiccatamente poligonale, ovvero anche fusata, a superficie più o meno irregolare, possono dipartirsi alcuni fili che vanno verso la periferia del nucleo. Il resto del nucleo è occupato dal succo nucleare che forma perciò un alone più o meno ampio attorno al nodetto nucleoliforme.

Nel nodetto nucleoliforme si distingue una parte centrale, che si colora quasi come il protoplasma (I. 38-40, 72-75 ecc.) e una sottile parte periferica, che si comporta come la cromatina; questa parte periferica ora sembra quasi omogenea, ora invece è rappresentata soltanto da minutissimi frammenti di cromatina più o meno discosti gli uni dagli altri; veri fili di cromatina non vennero da me mai riscontrati. I frammenti di cromatina qualche volta, a quanto sembra, si estendono anche lungo il tratto centrale dei fili che, come dissi, si dipartono dal nodetto nucleoliforme portandosi verso la periferia e che per se stessi non sembrano capaci di assumere il colore della cromatina.

La parte centrale del nodetto nucleoliforme non si presenta mai individualizzata rispetto alla cromatina, assieme colla quale sembra invece fusa.

I nuclei degli amfionti, oltre che della sorta ora descritta, possono essere anche di un'altra sorta (*nuclei della seconda sorta*) di cui subito accenno i caratteri differenziali in confronto coi precedenti. Tutti, o molti dei nuclei di un amfionte, possono presentarsi di dimensioni in generale minori e hanno il nodetto nucleoliforme molto più piccolo, non solo assolutamente, ma anche relativamente alla grandezza del nucleo a cui appartengono; per conseguenza il succo nucleare è relativamente più abbondante, ossia l'alone chiaro appare più ampio. Nel nodetto nucleoliforme di questi nuclei non sono riuscito a distinguere le due parti che ho descritto nella prima sorta di nuclei (I. 51-56 ecc.). Attorno al nodetto nucleoliforme trovasi (sempre?) una zona, per lo più sottile, che si colora meno intensamente (I. 83, 88, 94 ecc.).

Tra le due sorta di nuclei qui descritti esistono molti stadî che possono ritenersi intermedî. (I. 50. 74 ecc.).

Cerchiamo ora di decifrare il processo di moltiplicazione dei nuclei.

*Evidentemente si tratta di una moltiplicazione diretta. Un attento studio di tutti i varî stadî ci persuade che questa moltiplicazione diretta non decorre in modo uniforme, vale a dire, può essere una divisione diretta in due, oppure in parecchi nuclei.*

Fa credere alla divisione diretta in due un complesso di figure che si possono interpretare come stadî progressivi succedentisi nel seguente ordine:

1°. Il nodetto nucleoliforme è allungato a guisa di bastoncello (I. 52).

2°. Si riscontrano due nodetti nucleoliformi certamente derivanti dalla divisione in due del nodetto nucleoliforme allungato a bastoncello (I. 52).

3°. Attorno a ognuno dei due nodetti nucleoliformi, allontanatisi più o meno l'uno dall'altro, si è formato un alone chiaro (succo nucleare) e si hanno così due nuclei (I. 53, 54, 78, 79, 83 e 84. In alcune figure distinguesi la zona colorantesi meno).

Queste figure indicanti la divisione diretta in due si riscontrano facilmente nei nuclei della seconda sorta. In quelli della prima sorta, invece, non ho mai veduto niente di simile.

Alcune figure mi fanno supporre che la divisione diretta in due si verifichi anche nei nuclei che ho detto intermedî tra quelli della prima e della seconda sorta.

La divisione diretta in parecchi nuclei, da tre fino a forse dieci e più nuclei, viene indicata da un altro complesso di figure che si possono ripartire in due gruppi: l'uno riguardante il nucleo della seconda sorta e l'altro riguardante il nucleo della prima sorta.

Comincio dal gruppo riguardante la divisione del nucleo della seconda sorta in parecchi nuclei.

Questo gruppo si riannoda a quello precedente, indicante la divisione diretta in due soli nuclei, col quale probabilmente può aver comuni i primi stadî. Le varie figure del gruppo in discorso fanno ritenere con fondamento che il nodetto nucleoliforme si divide e suddivide fino a raggiungere un numero di nodetti nucleoliformi uguale a quello dei nuclei che si devono formare. Si arriva alla loro formazione raccogliendosi attorno a ogni nodetto nucleoliforme una certa quantità di succo nucleare (alone chiaro) (I. 54 e 76, 81, 82, 85-94). Si sono così formati tanti piccoli nuclei simili a quello maggiore da cui hanno avuto origine.

Occorre accennare che ad ogni divisione del nodetto nucleoliforme precede forse il suo allungamento a bastoncello.

Notiamo anche come si comporta il succo del nucleo durante il processo di divisione. Esso si distingue ancora quando si sono già formati alcuni nodetti nucleoliformi, i quali in esso appunto appaiono immersi; più tardi diventa indistinto.

Questo processo di divisione diretta in parecchi nuclei da parte del nucleo della seconda sorta, può certamente presentare varie modalità. Vi sono delle figure che tenderebbero a farlo definire come una sorta di gemmazione.

Vengo ora al gruppo di figure riguardanti la divisione diretta in parecchi nuclei del nucleo della prima sorta. Esse ci conducono alla convinzione che i frammenti di cromatina che, come ho detto nella descrizione del nucleo in discorso, stanno alla superficie del nodetto nucleoliforme, si portano alla periferia del nucleo e la sorpassano (I. 45, 47, 48, 49, 50).

Si hanno, cosi, tanti nodetti nucleoliformi simili a quelli del caso precedente riguardante il nucleo della seconda sorta; ognuno si circonda poi del succo nucleare (alone chiaro).

Si deve perciò ritenere che nel nucleo della seconda sorta lo stadio, in cui la cromatina forma quasi una massa omogenea periferica del nodetto nucleoliforme, sia antecedente a quello in cui essa si presenta nettamente suddivisa in tanti frammenti.

Mentre i frammenti di cromatina si portano, come sopra ho detto, alla periferia, il succo nucleare scompare e la sostanza componente la parte centrale del nodetto nucleoliforme diventa indistinta: io non mi sono potuto persuadere che essa assuma una parte speciale nel processo di divisione in discorso.

Ho trovato non di raro degli amfionti in cui sembrava che tutti i nuclei contemporaneamente avessero subìto questo processo di divisione.

Non posso finire questo cenno senza soggiungere che le figure da me interpretate come derivazione (I. 47-49 ecc.) dalla divisione del nucleo della prima sorta, non sono *assolutamente* provative, non potendosi eliminare del tutto la supposizione che, avanti

di arrivare ad esse, il nucleo della prima sorta si trasformi nel nucleo della seconda sorta.

Ho parlato fin qui di divisione diretta perchè in nessun caso sono arrivato ad ottenere una figura che potesse con sicurezza rientrare tra le figure cariocinetiche. Non posso abbandonare l'argomento senza far notare che mentre da un lato gli amfionti malarici, essendo enormemente piccoli, mal si prestano alle ricerche citologiche, dall'altro lato alle volte mi parve di vedere un accenno di fuso che invano cercai di mettere in evidenza. Molte volte ho notato tra i nodetti nucleoliformi un cordoncino (I. 79, 80, 81, 82, 87, 90) delicatissimo che li riuniva; esso è di difficile interpretazione.

Ciò nonostante parlo di divisione diretta perchè mi sento sostenuto dalle ricerche sopratutto di Schaudinn sugli altri Sporozoi.

* * *

Attorno ai nuclei che si succedono nelle varie generazioni si verifica un processo molto interessante che io denomino « processo di cellulazione imperfetta ». Intendo dire che attorno a ciascun nucleo si differenzia una zona di citoplasma; questa differenziazione però non è completa (I. 50-54), cioè restano dei ponti tra l'una e l'altra delle cellule così formate e per lo meno in molti casi, se non sempre, un tratto di cellula, maggiore o minore, non è limitato affatto.

È possibile formarsi un concetto approssimato di questo tratto non limitato richiamando alla mente le impronte che rimangono su un pezzo di creta su cui sia stato calcato uno stampino poliedrico.

Si noti tuttavia che la cellulazione non avviene solo alla superficie ma anche nell' interno della massa costituente il parassita.

Alle volte (I. 44) le cellule appaiono quasi libere in una lacuna comune (artificiale almeno in parte). Talora invece la cellulazione (I. 72-75) è appena distinta; ciò che mi spiego in certi casi riferendomi agli stadî differenti nei quali il parassita può venire sorpreso, in altri casi. invece, supponendo semplicemente un difetto di conservazione.

Per effetto di questa cellulazione incompleta, specialmente negli stadî giovani, oltre alle porzioni di citoplasma appartenenti ai singoli nuclei, si distingue una porzione di citoplasma indivisa nella quale risiede il pigmento del parassita (I. 44). Questa porzione, in cui risiede il pigmento, si rileva anche in stadî più avanzati (I. 95), nei quali, probabilmente a causa di maggiori complicazioni della figura, all'infuori che in questa porzione, non si può più distinguere con sicurezza il citoplasma indiviso da quello proprio delle singole cellule.

* * *

Per effetto dei processi che ho descritto, il numero dei nuclei aumenta man mano che il parassita ingrandisce; quando i nuclei sono diventati piuttosto numerosi non raggiungono più quel volume a cui potevano arrivare quando erano scarsi. Si può dire in generale che i nuclei man mano che aumentano di numero, diminuiscono di

volume. Del resto le variazioni individuali sono facilissime a verificarsi. Appena i nuclei hanno raggiunto il numero definitivo, specialmente se sono numerosi, sono enormemente piccoli (I. 58); si dà allora un momento in cui la cellulazione non è più evidente, come dirò in appresso.

***

Prima di proseguire mi occorre, tuttavia, mettere a confronto ciò che ho detto fin qui con quanto era stato osservato negli altri sporozoi e nei mononti dei parassiti malarici.

Evidentemente quel corpo che io e Feletti abbiamo denominato nodetto nucleoliforme nei parassiti malarici dentro il corpo dell' uomo, ossia nei mononti, trova riscontro nel nodetto nucleoliforme degli amfionti. Le due sorta di nuclei degli amfionti si osservano anche nei mononti, come risulta già dal lavoro da me pubblicato con Feletti, ma assai più evidentemente dalle figure di Ziemann. I modi di divisione nucleare negli amfionti sono essenzialmente uguali a quelle dei mononti (I. 96-106).

Non mi riesce di stabilire se il modo di moltiplicazione che io ammetto per i mononti, corrisponda a quello che ammette Schaudinn. Egli si limita a sostenere (1899) che il modo di moltiplicazione dei mononti coincide perfettamente fino ai minuti particolari con quello da lui scoperto con Siedlecki per la monogonia (schizogonia) del *Coccidium*, che anche nei mononti si tratta di una divisione diretta e che il cariosoma compie in ambedue i casi lo stesso ufficio come organo di divisione (*nucleolo-centrosoma*).

Senza fornire altre spiegazioni egli rimanda il lettore alla sua bella Memoria sui Coccidi (22 gennaio 1900), dove (54) è descritto soltanto il modo di divisione nucleare del *Coccidium Schubergi*, illustrato da osservazioni comparative cogli altri Coccidi dalle quali risulta che la divisione nucleare che prepara la monogonia (schizogonia), nel *Coccidium Schubergi* è ben differente che nel *Coccidium Lacazei* e nell'*Adelea*. In queste due ultime forme la divisione nucleare è *multipla*, mentre nel *Coccidium Schubergi* il nucleo si moltiplica dividendosi in due.

A quale specie di Coccidi Schaudinn si riferisca parlando dei parassiti malarici, non risulta.

Sembra inoltre che nei mesi trascorsi tra la pubblicazione del 1899 e quella del 1900 egli abbia mutato di opinione rispetto al significato del cariosoma, che, come ho già detto (vedi precedentemente), è sinonimo del nostro nodetto nucleoliforme (1890). Infatti mentre nella pubblicazione dell'anno scorso è definito come organo di divisione (nucleo-centrosoma), nella nuova pubblicazione si legge: « In ogni caso, il cariosoma dei Coccidi si distingue dai veri nucleoli delle cellule dei metazoi per il suo contenuto di cromatina. Sul suo significato fisiologico non posso dir nulla di sicuro ».

Faccio spiccare questa discordanza non già per far la critica a Schaudinn delle cui ricerche sono ammiratore, ma perchè mi sembra che ormai vada nascendo una grande confusione sul modo d' interpretare questo cariosoma. A questo riguardo si

osserva anche qualche differenza tra la Nota preliminare di Schaudinn e Siedlecki (1897) e la Memoria di Siedlecki (1899): si legga, per es., quanto si riferisce alla precedenza della divisione del cariosoma rispetto a quella della cromatina nella formazione dei macrogameti.

Tutto sommato, sarei per credere che dopo gli studî successivi, i quali man mano hanno dimostrato forti divergenze nel modo di comportarsi del cariosoma nelle varie forme senza confermare *pienamente* la suddetta precedenza della sua divisione, anche Schaudinn abbia finito per attribuire al cariosoma un' importanza molto minore di quella che in principio riteneva dovesse avere.

Da un punto di vista generale si può dire che il cariosoma, denominato anche nodetto nucleoliforme, presenta molte varietà tra le quali è compresa anche quella dei parassiti malarici.

Ciò che li distingue (parlo specialmente degli amfionti sui quali ho fatto le ricerche coi migliori metodi di cui disponga la tecnica microscopica), è il trovare, per quanto ho potuto osservare, tutta la cromatina raccolta nel cariosoma, ciò che finora non è stato riscontrato negli altri Sporozoi.

V' ha di più: mentre nei Coccidi sembra costante una differenza tra il processo di amfigonia (sporogonia) e quello di monogonia (schizogonia), mancando nell'amfigonia il cariosoma, invece nei parassiti malarici persiste il cariosoma tanto nell'amfigonia che nella monogonia.

A questo riguardo ricordo che sono state notate differenze anche nel cariosoma dei diversi Coccidi. Così nel microgamete del *Coccidium Lacazei* evvi un evidente cariosoma che manca nel *Coccidium Schubergi*.

*
* *

Consideriamo lo stadio, in cui ritengo che il numero dei nuclei sia definitivo (I. 58). In questo stadio essi sono dapprima *enormemente piccoli* e sembrano formati soltanto di un piccolissimo corpuscolo di cromatina: stanno disposti regolarmente alla periferia di *masse citoplasmatiche* che in sezione appaiono più o meno poligonali, o anche trabecolari. In una di queste masse, situata più o meno discosta dalla periferia del parassita si vede il pigmento. Qua e là, qualche massa presenta ancora per lo più nel suo interno un nucleo, meno piccolo degli altri e risultante di una massa di cromatina, circondata da un alone chiaro.

Qua e là, invece delle masse poligonali, si possono incontrare dei fili di citoplasma lungo i quali si distingue una serie di nuclei minimi come quelli sopra descritti.

I nuclei non si mantengono enormemente piccoli; crescono certe volte anche notevolmente, sempre restando costituiti, almeno in apparenza, di sola cromatina. Attorno ad ognuno di essi diventa evidente molto presto una piccola zona di citoplasma più chiaro di quello granuloso che costituisce le masse citoplasmatiche suddette. Si vengono a formare così attorno alle masse citoplasmatiche tante celluline le cui basi sono fuse colle masse stesse (I. 59: verso il margine destro). Non posso escludere del tutto che questa distinzione in celluline esistesse già quando i nuclei erano piccolissimi.

Dentro le masse qua e là restano sparsi rari nuclei.

Giunti a questo stadio, possiamo denominare le celluline *sporoblasti* ([a]) e le masse citoplasmatiche *masse residuali*. Esse hanno evidentemente una grande importanza per la nutrizione, da cui dipende l'ulteriore sviluppo degli sporoblasti.

Ho descritto il modo solito di formazione degli sporoblasti: si dànno però molte modalità (I. figure varie) riguardanti non soltanto il numero degli sporoblasti, ma anche la grandezza, il numero e la forma delle masse residuali. Il numero degli sporoblasti è piccolo quando si sviluppano da un amfionte pochi sporozoiti; le masse residuali possono essere in gran parte ridotte a lamelle o a trabecole; le variazioni possono anche riguardare i vacuoli ([b]) dei quali non ho ancora fatto cenno, perchè la loro presenza sicura risulta soltanto negli stadî ulteriori che non ho ancora descritti.

Gli sporoblasti, allungandosi, si trasformano in sporozoiti. Dapprima la loro forma è uguale a un mezzo fuso, cioè sono rigonfiati verso l'estremità che si continua nella massa residuale; in questa parte rigonfiata si trova il nucleo ([c]) (60, 63 e 64). A poco a poco acquistano la forma definitiva di fuso molto allungato, quasi filiforme (I. 65. 70). Fino a maturanza completa gli sporozoiti restano attaccati, dirò meglio saldati, alle masse residuali, come si può dimostrare facilmente nei preparati per semplice dilacerazione conservati e coloriti col metodo di Romanowski (II. 11). In questi preparati se gli amfionti non sono maturi, non si ottengono quasi mai sporozoiti isolati; essi incontransi, per contrario, attaccati tutti attorno alle masse residuali.

Perciò appunto, quando si osservano a fresco gli amfionti non maturi, riscontransi gli sporozoiti disposti in un ordine complicato ma mirabile, quasi impacchettati nel miglior modo, per occupare il minor spazio possibile. Così riscontransi anche sui tagli, come dirò meglio più avanti.

Quando gli sporozoiti sono maturi, non aderiscono più alle masse residuali e perciò assumono quella disposizione quasi a vortice, di cui è già detto più sopra a proposito delle osservazioni a fresco (II. 9).

Il nucleo negli sporozoiti, che vanno allungandosi, viene a trovarsi circa a metà della loro lunghezza; nei primi stadî è tondeggiante; diventa ovale, allungato negli sporozoiti maturi, o quasi.

Nei primi stadî come negli sporoblasti, il nucleo mi apparve formato soltanto di una massa di cromatina. Negli sporozoiti vicini a maturare, o maturi (II. 10, 11, 12), usando la colorazione col metodo di Romanowski, ho distinto parecchi granuli di cromatina, disposti per lo più in una fila; qualche volta due, allontanati uno dall'altro, qualche altra volta tre, quattro, ecc. Eccezionalmente, in certi amfionti, gli sporozoiti presentavano tutti un nucleo apparentemente risultante di un'unica massa di cromatina.

([a]) Il termine *sporoblasti* venne primitivamente usato per indicare le cellule che formano le spore dentro le quali si sviluppano gli sporozoiti; venne poi esteso anche alle cellule che formano direttamente uno sporozoito. Forse sarebbe meglio denominare gli sporoblasti dei parassiti malarici, *sporozoitoblasti*.

([b]) Noto fin d'ora che quando le masse residuali sono ridotte a lamelle o a trabecole, i vacuoli sono molto abbondanti (I. 68, 67, 65 ecc.).

([c]) In questo stadio gli sporoblasti rassomigliano agli sporozoiti della *Rhabdospora thélohani* Laguesse.

Gli sporozoiti raggiungono la lunghezza di circa 14 $\mu$ con una larghezza massima di circa 1 $\mu$.

Come in tutti gli altri sporozoiti il loro citoplasma non è rivestito di membrana, ma è denso, rifrangente, apparentemente omogeneo, presso a poco come quello degli sporoblasti e come in generale l' ectoplasma dei protozoi.

Come risulta da quanto ho fin qui detto, gli sporozoiti si sviluppano tutti nello stesso tempo e maturano contemporaneamente.

* * *

Considoriamo ora le masse residuali.

Su di esse possiamo meglio orientarci, se cominciamo a studiarle, quando gli sporozoiti le hanno abbandonate come spiego a pag. 146 (III, 17, 18. II. 13).

Raramente se ne distingue una sola voluminosa, ovalare o tondeggiante; di solito se ne distinguono parecchie, parimenti più o meno tondeggianti, o ovalari, uguali tra loro o di differenti dimensioni; qualche volta sono molto e molto piccole: talora poche e molto piccole. Non si può escludere che possano mancare del tutto: ciò che però io non ho verificato.

Risalendo fino alla formazione degli sporoblasti, si trova sempre che quanto meno maturi sono gli amfionti, tanto maggior volume hanno le masse residuali (I. 61, 66). Evidentemente esse impiccoliscono, servendo di nutrizione agli sporozoiti man mano che questi ingrandiscono. Non è però soltanto questione di nutrimento, ma è anche questione di spazio, perchè lo spazio lasciato libero da esse mentre impiccoliscono, viene occupato in complesso dagli sporozoiti.

Le masse residuali sembrano granulose e dentro di esse si possono trovare dei corpuscoli, che si comportano come la cromatina, e talvolta sono circondati da un alone chiaro. Essi si possono definire nuclei; le masse residuali costituiscono dunque dei sincizi (II. 3, 4, 5, 7). Alle volte però i nuclei sono scarsissimi (II. 1); su intere sezioni non si vedono affatto e forse possono mancare in tutto il parassita (II. 2, 9).

Evidentemente si devono ritenere derivati da quei nuclei che, come ho detto più sopra, restavano nelle masse residuali, quando già si erano formati gli sporoblasti (I. 59, 60).

In un punto di una massa residuale si trova accumulato il pigmento che l'amfionte ha portato seco nello spessore delle pareti intestinali, come si è detto e ripetuto: questo pigmento, in generale, viene a trovarsi più o meno lontano dalla periferia. Non è raro il caso che si possa facilmente mostrarne la presenza anche negli amfionti con sporozoiti maturi. Esso tanto negli amfionti maturi che in quelli in via di maturare appare formato di pochi granuli che hanno talvolta conservato ancora presso a poco l' ordine (p. es. a semicerchio) in cui erano disposti negli amfionti giovanissimi (I. 70, 63. II. 17).

Nelle masse residuali possono trovarsi in maggiore o minor numero, quei corpuscoli plasmatici di cui ho precedentemente fatto cenno.

Scendo ora, per quanto mi è possibile, a più minuti particolari intorno alle masse residuali.

Nell' amfionte, quando si vanno formando o si sono formati gli sporoblasti (I. 57 e 58) sono evidenti, come ho detto a pag. 142, molte masse residuali, alcune allungate, altre tendenti più o meno alla forma tondeggiante. Ora sorge la domanda: queste masse sono esse isolate l'una dall'altra, o presentano invece dei ponti che le riuniscono, ovvero in parte sono riunite e in parte disgiunte in uno stesso individuo, ovvero infine possono presentare questi varî casi, nei varî individui?

Credo che quest'ultima interpretazione sia la più probabile. Certo è in ogni caso che io ho trovato degli individui quasi maturi, nei quali la massa residuale era unica, ma la sua superficie era molto irregolare per rilievi e avvallamenti, in parte molto spiccati, fino a congiungersi gli avvallamenti opposti formando quasi una galleria. Uno di questi casi è rappresentato appunto nella serie di sezioni di uno stesso parassita, che ho riprodotto (II. 15 *a-j*).

Osservando a fresco si è portati a credere che questo caso di una massa unica, non sia punto raro.

Alcune volte però sembra di poter stabilire che le masse residuali siano parecchie già inizialmente: in questi ultimi casi, in ogni modo, non esisterebbero che dei ponti stretti e poco numerosi tra le varie masse.

Brevemente, possiamo dire che la massa residuale, quando cominciano a svilupparsi gli sporozoiti, può essere unica, con tanti avvallamenti e rilievi relativamente considerevoli e irregolari, ovvero può essere divisa completamente o quasi (?) in tante masse di forme svariate che sui tagli appaiono tondeggianti, ovalari, allungate, a ferro di cavallo, ecc., ovvero anche trabecolari, lamellari, ecc.

Quasi sempre, in ogni amfionte non maturo, s' incontra una sezione in cui la massa residuale ha la forma di ferro di cavallo (II. 3), e delle sezioni in cui le masse residuali sono più o meno tondeggianti, producendo così un particolare ordinamento degli sporozoiti (II. 1).

Studiando le serie di sezioni dei singoli parassiti molte volte mi venne l'idea che la massa residuale fosse paragonabile a un filo ravvolto a gomitolo, per un tratto, di spessore quasi uniforme e per un tratto, con tanti strozzamenti. Ho cercato perciò di svolgere il gomitolo nei preparati per dilacerazione, ma non vi sono riuscito che molto incompletamente.

Voglio aggiungere che le alterazioni prodotte nei preparati, che a fresco hanno subìto l'azione della formalina, si possono intendere facilmente, ammettendo che la massa residuale negli amfionti sia unica fino al momento in cui essi sono quasi maturi.

* * *

Faccio ora qualche osservazione sulla disposizione degli sporozoiti negli amfionti non maturi.

Certamente, pur conservando sempre l'ordinamento quasi parallelo in serie, varia però molto la disposizione delle serie stesse. Alle volte gli sporozoiti mostrano, dirò così, un orientamento, perchè in una serie di tagli di uno stesso individuo restano tutti sezionati nel medesimo senso.

È molto importante di aggiungere che le masse residuali, come si dimostra con sicurezza sui tagli, non sono coperte di sporozoiti in tutta la loro superficie libera,

perciò molte volte, tra una massa e l'altra, invece di una doppia serie di sporozoiti ne troviamo una semplice (II. 1), aderente tutta ad una delle masse.

Nei casi in cui gli sporozoiti sono pochi, spicca la loro tendenza a svilupparsi nella parte periferica dell'amfionte.

Si può stabilire la regola generale che tutto lo strato superficiale dell'amfionte è formato di sporozoiti (II. 3. 4 e 5). Quando gli sporozoiti sono molto numerosi soltanto eccezionalmente la massa residuale arriva alla periferia (II. 2). Il caso si verifica più facilmente se gli sporozoiti sono scarsi.

* * *

Veniamo ora a considerare i vacuoli.

È un fatto ben sicuro che la massa residuale può presentarsi più o meno vacuolizzata, alle volte con vacuoli relativamente grandi (III. 31). In questi vacuoli sta un liquido che può coagulare. Questi vacuoli nella massa residuale alle volte mancano. Io li ho trovati negli amfionti vicini, ovvero avviantisi alla maturazione.

È facile incontrare sui tagli, fin dal momento in cui cominciano a delinearsi gli sporozoiti, vacuoli più o meno numerosi, rivestiti da sporozoiti, più o meno avanzati di sviluppo (I. 65). Questi vacuoli forse talvolta si formano dentro le masse residuali; poi per spostamenti delle masse residuali e dei relativi sporoblasti o sporozoiti, accompagnati da riduzione parziale delle masse stesse (come avvenga la cosa non ho ben precisato), vengono a trovarsi circondati soltanto di sporozoiti. In generale si deve ritenere che i vacuoli circondati da sporozoiti si originano dalle lacune più o meno anguste che compaiono dove si sviluppano gli sporozoiti (lacune che nelle figure sono lasciate in bianco) (I. 58-65).

Alle volte nell'amfionte maturo, o quasi, si trova un enorme vacuolo che ne occupa una gran parte: è circondato dagli sporozoiti e dalle masse residuali molto ridotte e fornite di piccoli vacuoli (I. 67). Il grande vacuolo può apparire in comunicazione con quelli piccoli. In generale quando si formano pochi sporozoiti i vacuoli assumono grande sviluppo. In questi casi negli amfionti maturi o quasi, spesso si incontrano sui tagli dei fasci di sporozoiti che li attraversano in vario senso (I. 68-70).

È facile trovare dei vacuoli negli amfionti ancora lontani dalla formazione degli sporoblasti. Un vacuolo eccentrico, certamente non contrattile, si trova molte volte negli amfionti piccoli (vedi pag. 135). Sui tagli degli amfionti un po' più grandi si vede non di raro un grande vacuolo centrale o quasi; non credo che sia artificiale. Certo è però che si producono facilmente anche delle lacune artificiali che molte volte possono dar luogo a equivoci nell'interpretazione delle figure presentate dai tagli.

* * *

*Riassumendo, in complesso si può dire che l'amfionte dei parassiti malarici, a differenza di quanto si verifica, per quanto sembra, in generale, nelle Gregarinide e nei Coccididi, riunisce insieme le fasi di accrescimento e di riproduzione. La riproduzione è caratterizzata dalla produzione di un enorme numero di sporozoiti,*

*i quali stanno tutti attaccati alla superficie della massa residuale. La superficie sarebbe troppo piccola per tanti sporozoiti, se non crescesse molto con [introflessioni (?) complicate che dividono e suddividono la massa residuale]. Gli sporoblasti non si formano direttamente dall'amfionte uninucleare, ma indirettamente dopo una serie di generazioni, cioè di successive divisioni, che dal modo di comportarsi del nucleo possono in complesso definirsi dirette. Si potrebbe perciò, allargando il senso del termine sporoblasto, parlare di generazioni successive di sporoblasti.*

*Gli sporoblasti sono tutti nudi.*

*Quando gli sporoblasti sono diventati molto numerosi, si trasformano direttamente in sporozoiti, senza prima dar luogo a spore. Gli sporoblasti dei parassiti malarici potrebbero denominarsi più propriamente sporozoitoblasti.*

*Il processo che conduce alla formazione degli sporozoiti presenta una certa somiglianza colla segmentazione superficiale delle uova degli Artropodi. Nelle masse residuali restano dei nuclei paragonabili ai nuclei del tuorlo delle uova a segmentazione parziale: esse formano perciò un sincizio.*

*La capsula che involge gli amfionti è avventizia, cioè formata dall'oste e non dal parassita* ([a]).

* * *

Quando l'amfionte è maturo, la capsula si apre lasciando uscire gli sporozoiti nelle lacune della cavità generale del corpo (celoma di molti autori) nelle quali circola il sangue. Oltre agli sporozoiti escono anche le masse residuali. La deiscenza della capsula avviene probabilmente come si ammette per le Gregarinide, in seguito al rigonfiamento della massa residuale.

Certo è però che, quando gli amfionti sono maturi, osservandoli al microscopio, facilmente lasciano uscire a poco a poco gli sporozoiti da piccole fenditure che si formano qua e là, o anche in quantità da un'ampia fenditura; in quest'ultimo caso come se fosse avvenuto uno scoppio (III. 15). Invece la rottura della capsula non si verifica mai negli amfionti immaturi.

Non di raro in certe capsule resta un certo numero di sporozoiti e altre volte anche qualcuna o tutte le masse residuali (III. 17 e 18). La capsula svuotata in tutto o in gran parte, rimane avvizzita tranne in qualche rarissimo caso (III. 16). Evidentemente essa subisce un processo di riassorbimento perchè dopo qualche giorno non se ne trova più traccia.

* * *

Gli sporozoiti e le masse residuali che restano nelle capsule possono presentarsi ravvolti da una sostanza bruna (involucro bruno) (III. 20 e 21). Si hanno allora le *spore nere* ([b]) di Ross, dette meglio *corpi bruni* (Grassi, Bignami e Bastianelli). Essi sono essenzialmente di due sorta: gli uni a forma più o meno spiccata di ba-

([a]) Questo processo era stato descritto in modo del tutto rudimentale da Ross e da Koch per il Proteosoma. In parte, quello che si rileva più facilmente e che permette di rilevare la formalina, si trova già nel lavoro mio con Bignami e Bastianelli.

([b]) Ross le ha descritte nel Proteosoma.

stoncello derivati appunto dagli sporozoiti; gli altri più o meno tondeggianti e di dimensioni molto varie derivati invece dalle masse residuali.

Qualche volta il numero degli sporozoiti coll' involucro bruno è relativamente considerevole (30 o 40), di solito è scarso (6-8-10-12 ecc.). In una stessa capsula si possono formare involucri bruni tanto attorno a un certo numero di sporozoiti, quanto intorno alle masse residuali; altre volte una capsula presenta solo sporozoiti, ovvero soltanto masse residuali coll' involucro bruno.

Talora si trovano aderenti all' intestino, senza che sia distinguibile la capsula dell'amfionte, alcuni sporozoiti coll' involucro bruno, più o meno irregolare (III. 22 e 23).

Talvolta l' involucro bruno sembra che sia formato attorno a un frammento di sporozoito.

La qui descritta origine dei corpi bruni spiega un fatto già notato nella mia pubblicazione con Bignami e Bastianelli, che, cioè, compaiono alcuni giorni dopo la maturazione degli sporozoiti.

Io li studiai in un individuo che avevo infettato artificialmente colle semilune e li vidi piuttosto di raro anche in individui presi in vita libera. Tanto nel primo che nei secondi, le ghiandole salivari erano piene di sporozoiti (vedi più avanti) mentre l' intestino presentava anche parecchie capsule avvizzite e svuotate.

Parecchie volte si trovano degli *Anopheles* in cui i corpi bruni presentano caratteri un po' diversi sì che il loro modo di formazione non è evidente ([a]) (III. 28 e II. 17). Più esattamente si tratta di corpi ora gialli, ora giallo-bruni, talvolta anche bruni. Per brevità li denomino *corpi giallo-bruni*. Come i corpi bruni, si possono distinguere in varietà. Gli uni sono *allungati*, evidentemente provenienti da sporozoiti, gli altri *più o meno irregolarmente tondeggianti* riferibili in parte a masse residuali, in parte probabilmente a frammenti di sporozoiti. A frammenti di sporozoiti sono pure riferibili probabilmente altre forme a *bastoncello corto*, *a pera*, o *somiglianti a blastomiceti gemmanti*, senza però poter escludere che alcune di queste forme appartengano invece a masse residuali.

I corpi allungati hanno una tinta gialla, presentano parecchi strozzamenti e di raro lasciano trasparire in parte lo sporozoito; alcuni di essi sono molto sottili. Questa varietà di corpi è relativamente poco abbondante.

I corpi a bastoncello corto, o a pera, o rassomiglianti a blastomiceti gemmanti sembrano in parte frammenti dei corpi allungati con cui perciò hanno comuni parecchi caratteri, quali il colore, l'aspetto. In qualcuno di essi il frammento di sporozoito è evidente, ma sembra colorato d' un giallo un po' più scuro.

Altri corpi a bastoncello o a pera o rassomiglianti a blastomiceti gemmanti, o aventi forme più o meno tondeggianti, invece che gialli sono giallo-bruni per lo più a strati gialli e bruni succedentisi (spesso sono evidenti due strati, talvolta tre) con una parte centrale tondeggiante o irregolare, incolora. Qualche volta invece della parte chiara centrale, il corpo presenta un infossamento occupato appunto da sostanza chiara. La parte centrale chiara, ha non di raro una tinta più o meno leggera tendente al rosso.

([a]) Sono figurati anche nel lavoro con Bignami e Bastianelli (tav. I, fig. 15, 16, 17).

Le parecchie varietà dei corpi in discorso si trovano mescolate assieme dentro un medesimo amfionte in numero di 2-3 fino a 40-50, di solito però soltanto in numero di 15-20, in mezzo a una massa granulosa a granuli più o meno fini. La massa granulosa che li riunisce è tanto più abbondante quanto più scarsi sono i corpi; qualche volta essa presenta altri corpi tondeggianti, molto rifrangenti, incolori.

Attorno alla massa granulosa entro la quale, come ho detto, stanno sparsi più o meno numerosi, i corpi giallo-bruni, trovasi una capsula uguale a quella degli amfionti. Questa capsula non è punto raggrinzata.

Di queste capsule che, ripeto, contengono in mezzo a una massa granulosa da 2 fino a 50 corpi gialli o giallo-bruni o anche bruni, e che hanno la forma tondeggiante e le dimensioni solite degli amfionti maturi, in un *Anopheles* se ne possono trovare da 1 a 12 e forse più.

Qualcuna di queste capsule contiene anche una grande massa centrale d'aspetto particolare, nella quale si rileva evidente il pigmento del parassita malarico e si possono colorire molti corpiccinoli che sembrano nuclei. È naturale d'interpretarla come massa residuale (II. 17).

In quegli stessi individui che presentavano le capsule coi corpi giallo-bruni ho trovato capsule avvizzite contenenti o no masse residuali, e sporozoiti più o meno abbondanti nelle ghiandole salivari.

Tenendo presente tutte queste circostanze è naturale di ammettere che i corpi giallo-bruni si formino precisamente come i corpi bruni.

Già nel mio lavoro con Bignami e Bastianelli, tanto i corpi bruni, quanto i giallo-bruni venivano da noi giudicati « alterazioni regressive del parassita ». Questo nostro giudizio era basato sulla irregolarità di forma dei corpi in discorso, sulla loro rarità e sulla circostanza che processi degenerativi simili si verificano in altri parassiti dei Culicidi: esso riceve una nuova conferma fondamentale dalle osservazioni da me fatte, le quali precisano il processo regressivo e, dimostrando che *esso comprende non soltanto gli sporozoiti, ma anche le masse residuali*, esclude qualunque ipotesi tendente a spiegare i corpi bruni e giallo-bruni come fasi progressive.

Il processo regressivo, o d'involuzione che si voglia dire, è evidente sopra tutto nei corpi giallo-bruni (frammentazioni, irregolarità, stratificazione dell'involucro).

In alcuni casi ho trovato attorno a singole capsule coi corpi giallo-bruni una massa protoplasmatica contenente un nucleo, massa che non ho potuto studiare esattamente (fagocito?).

Se i corpi giallo-bruni rappresentino una fase ulteriore d'involuzione rispetto ai corpi bruni, è una questione che non posso decidere con sicurezza, perchè potrebbero invece rappresentare un processo regressivo alquanto differente da quello dei corpi bruni ([a]).

Sarebbe interessante poter determinare in quali condizioni si formano i corpi in discorso. Avendo io trovato i corpi giallo-bruni soltanto d'inverno, in *Anopheles* presi in vita libera, suppongo che l'abbassamento di temperatura possa avere un'influenza

([a]) Recentemente Ross suppose senza fondamento che i corpi bruni fossero funghi parassiti.

sulla loro formazione, ma non ho potuto fare osservazioni sufficienti per asserire la cosa con certezza.

Con la suddetta conclusione rispetto alla natura dei corpi bruni e giallo-bruni, come ho già pubblicato con Bignami e Bastianelli, concordano i fatti epidemiologici da un lato e dall' altro gli esperimenti. Mi spiego.

Se questi corpi fossero stati realmente spore, come supponeva Ross, avrebbero avuto una grande importanza, perchè avrebbero dimostrato l' esistenza di un nuovo ciclo di sviluppo dei parassiti malarici. Essi avrebbero potuto subire i seguenti destini:

1° passare nell' ambiente esterno colla morte dell' *Anopheles* e quindi infettare l' uomo introducendosi nel tubo intestinale per mezzo dell'acqua potabile, o per mezzo dell' aria, ovvero introducendosi nelle vie aeree;

2° colla morte dell'*Anopheles* passare nell' acqua e infettare le larve degli *Anopheles* che perciò potrebbero nascere infetti.

Questo secondo destino venne escluso: *a*) con ripetuti esperimenti diretti sia ad infettare le larve degli *Anopheles* coi corpi bruni e coi corpi giallo-bruni, sia ad infettar l' uomo cogli *Anopheles* neonati (vedi parte sperimentale); *b*) con molteplici osservazioni sulle larve e sulle ninfe degli *Anopheles* per rintracciarvi i corpi in discorso e le loro fasi ulteriori di sviluppo.

Tanto gli esperimenti *a*) che le osservazioni *b*) diedero invariabilmente risultato negativo.

Il primo destino veniva già reso inverosimile da considerazioni epidemiologiche (l' acqua non è veicolo d' infezione malarica) e dal fatto che i corpi in questione hanno un involucro, ciò che li fa credere *a priori* incapaci d' infettare per mezzo delle vie aeree. Esso venne assolutamente escluso cogli esperimenti diretti, avendoli io ingoiati e fatti ingoiare da altri impunemente, in differenti epoche.

C) Passaggio degli sporozoiti nelle glandule salivari. — Gli sporozoiti fuorusciti spontaneamente dalla capsula, quando si osservano in soluzione di albume e cloruro di sodio, si vedono talvolta isolati.

Essi, come in generale gli sporozoiti degli sporozoi, fanno dei movimenti serpentini, si piegano a esse o a cerchio. Questi movimenti naturalmente cessano esponendo il preparato ai vapori di acido osmico.

Specialmente gli sporozoiti usciti da amfionti che si aprono per effetto della pressione mentre si fa l' osservazione al microscopio (si noti che si aprono soltanto quando sono maturi o quasi), si presentano riuniti in fasci da una minima quantità di sostanza la quale è di certo appiccaticcia e gelatinosa. Questo fatto dev' esser messo in rapporto con quanto ha osservato Schaudinn negli sporozoiti dei Coccidi; essi, cioè, secernono, come le Gregarine, su tutta la superficie del loro corpo, una sostanza appiccaticcia e gelatinosa la quale li fa locomuovere in avanti. È perciò presumibile che anche gli sporozoiti dei parassiti malarici abbiano la capacità di far movimenti di locomozione, che però non ho avuto occasione di osservare con sicurezza.

Gli sporozoiti sono incolori, relativamente rifrangenti, filiformi, colle estremità assottigliate e difficilmente visibili (III. 19).

E) Altri sporozoi parassiti dei Culicidi. — Per molto tempo io, Bignami e Bastianelli sospettammo (7) che potessero essere in rapporto coi parassiti malarici due altri parassiti appartenenti al gruppo degli Sporozoi, che si trovano non di raro negli *Anopheles*.

Questi due Sporozoi possono forse offrirci un' arma per ridurre la quantità di *Anopheles*.

Quanto alla sistematica, qui mi limito a dichiararli di sede incerta, nella legione dei *Myxosporidia*, nella quale comprendo anche i mal noti *Serumsporidia* ([a]).

Darò una brevissima descrizione di questi parassiti, che ho studiato solamente quanto era necessario per poter escludere che appartenessero al ciclo dei parassiti malarici.

La prima specie abita nella cavità generale del corpo dell'Anofele, libera, od aderente, ai più svariati organi (differenti parti dell' intestino, ghiandole salivali, vaso dorsale). Scendo a qualche particolare.

In uno stadio (probabilmente giovanile) (III 24 *c*) si presenta sotto la forma di masse plasmiche libere, che facilmente nei preparati a fresco appaiono subtondeggianti: non ho potuto constatare in esse veri movimenti ameboidi. In queste masse plasmiche sui tagli ho riscontrato numerosi nuclei differenti tra loro per la forma, per la grandezza e per la cromatina. Qualche volta contenevano anche dei granuli giallastri.

Due volte mi occorse di osservare a fresco in cloruro di sodio molte masse plasmiche libere nelle quali si trovavano tanti corpicciuoli più o meno nettamente ovalari con un corpuscolo centrale splendente (III. 25).

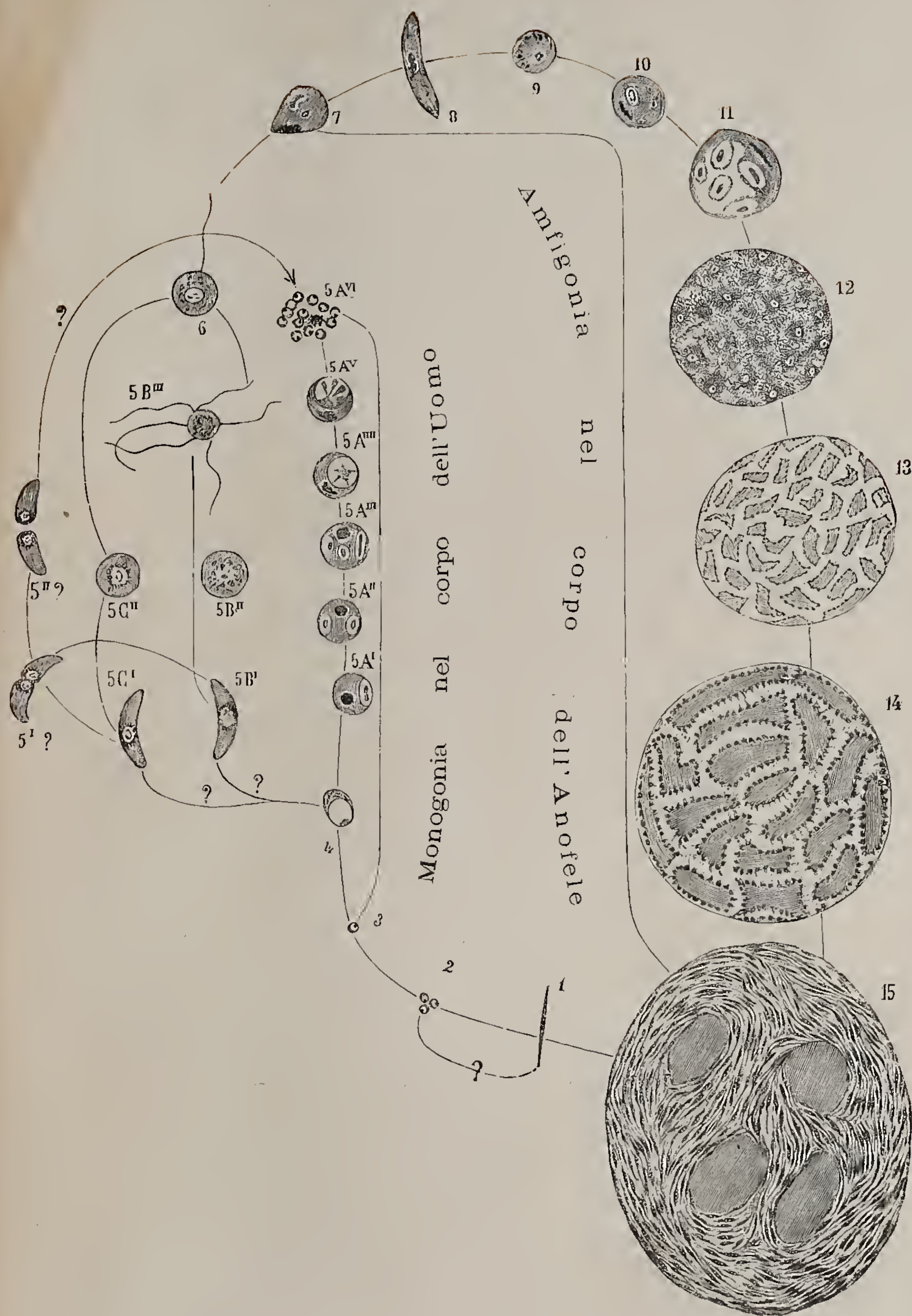
Questi corpuscoli rassomigliantissimi a sporozoiti erano mobili: si vedevano infatti uscire dalle masse plasmiche e muoversi nel campo del microscopio.

Io li credetti sporozoiti dei parassiti malarici; più tardi, però, ebbi occasione di rettificare la mia opinione, essendomi persuaso che ne sono totalmente differenti. Nei *Myxosporidia* non è stato ancora riscontrato uno stadio simile e perciò l'or detto fenomeno da me osservato ha molto interesse, perchè apre la strada a ulteriori ricerche.

Molto comunemente i parassiti in discorso (III. 24 *a*) sono aderenti ai varî organi testè nominati sotto forme svariate, alle volte di tuboli, alle volte di globi irregolari, alle volte di ampolle. In questi casi mostrano lo strato periferico ispessito a guisa di cuticola: il contenuto è una massa plasmica enormemente infarcita di spore con una membrana ben definita. In queste spore non ho potuto riscontrare le capsule polari che, però, non ho ricercato a sufficienza. È importante osservare che questi sporozoi vanno incontro a un processo di involuzione simile a quello che ho descritto per gli sporozoiti e per le masse residuali dei parassiti malarici (involucro bruno). (III. 24 *a*, 24 *b'*, 24 *b''*).

Non esiste certamente alcun rapporto tra i parassiti malarici e i parassiti in discorso, come dimostra, oltre la riportata descrizione, una lunga serie di esperienze.

([a]) Se i *Serumsporidia* si dovranno separare dai *Myxosporidia*, naturalmente si dovrà cercare se i parassiti dell' *Anopheles* appartengano piuttosto all' uno che all' altro gruppo.




# Tavola A.

## Rappresentazione schematica del ciclo evolutivo dei parassiti malarici.

Ciò che non è accertato vien tenuto distinto da ciò che è accertato, per mezzo di punti interrogativi.

Le due sorta di generazioni ben note, amfigonica (*nel corpo dell' Anofele*) e monogonica (*nel corpo dell' Uomo durante il periodo febbrile*), sono state richiamate nello schema stesso, e in proposito non occorrono quasi spiegazioni; come ognuno può rilevare la generazione amfigonica (sessuale) è rappresentata dalle fig. 7-15 (amfionti nei loro varî stadî), e quella monogonica (neutrale = sporulazione), dalle fig. 3, 4, $5A^{I}$-$5A^{VI}$ (mononti nei loro varî stadî).

L' anteridio (semiluna trasformabile in corpo flagellato) e la formazione delle microspore (microgameti = flagelli) sono rappresentati dalle fig. $5B^{I}$-$5B^{III}$; la macrospora (macrogamete = semiluna non trasformabile in corpo flagellato), dalle fig. $5C^{I}$ e $5C^{II}$. Gli stadî $5B^{I}$ e $5C^{I}$ si trovano nell' Uomo, gli altri ($5B^{II}$, $5B^{III}$ e $5C^{II}$) nell' Anofele.

La fig. 6 rappresenta la fecondazione (che avviene nel corpo dell' Anofele); ad essa segue l' amfigonia, rappresentata dalla fig. 7 e successive.

Non essendo determinato con sicurezza il modo di sviluppo della macrospora e dell' anteridio, viene indicata la loro origine probabile da un mononte di media grandezza con un punto interrogativo.

Le fig. 1, 2, rappresentano la prima generazione degli sporozoiti nel corpo dell' Uomo (*periodo d' incubazione*). Non è stata ancora osservata, ma certamente deve verificarsi, probabilmente come io l' ho indicata.

Le fig. $5^{I}$ e $5^{II}$ rappresentano la supposta generazione partenogenetica (*recidive a lunghi intervalli*), la quale si verificherebbe sì per le macrospore come per gli anteridi.

La generazione partenogenetica per divisioni successive (sporogonia politomica?) dovrebbe condurre a figure simili alla fig. $5A^{VI}$.

Le uova degli *Anopheles* si trovano non di raro infette da un altro sporozoo, riferibile probabilmente ancor esso alla legione dei *Myxosporidia*. Talvolta tutte le uova di un *Anopheles* sono infette, talvolta soltanto poche. Nelle uova mature, o quasi, il parassita in discorso presenta un' enorme quantità di spore in via di formazione, oppure già formate. In quelle in formazione distinguo una massa plasmica con due, quattro, otto nuclei (III. 26); in quelle già formate una capsula con otto sporozoiti (III. 27).

Anche questo parassita vuol essere ulteriormente studiato, essendo le mie cognizioni in proposito evidentemente tanto imperfette, che avrei tralasciato di parlarne se non avessi trovato necessario di persuadere il lettore che esso non ha nulla a che fare col parassita malarico, come dimostrano, oltre i suddetti caratteri del parassita, anche numerose prove sperimentali ([a]).

Nei *Culex*, siano larve, ninfe o insetti perfetti, si può trovare un parassita che senza dubbio appartiene ai *Myxosporidia*, come dimostrano le sue spore.

In certe specie di *Culex* è enormemente comune. In principio sospettai che appartenesse al ciclo dei parassiti malarici; ma più tardi dovetti escluderlo, sia per i suoi caratteri, sia perchè non si trova nell' *Anopheles*, sia, infine, per molti esperimenti riusciti tutti negativi.

F) Inesistenza di un altro ciclo. — In conclusione è assolutamente certo che i parassiti malarici non assumono nel corpo dell'*Anopheles* altre forme oltre quelle che ho descritte.

Una gran parte del mio tempo è stata appunto consumata per questo lato negativo della questione. Io non ho soltanto escluso dal ciclo dei parassiti malarici i suddetti parassiti, ma ho fatto ricerche estesissime nelle uova, nelle larve, nelle ninfe degli *Anopheles;* ho esaminato moltissimi *Anopheles* neonati, o no, e infetti, o no, non limitandomi soltanto all' intestino e alle ghiandole salivali, ma prendendo in esame tutti i varî organi. Dopo essermi persuaso che i parassiti in condizione atta a infettar l' uomo non si potevano trovare che nelle ghiandole salivali, originati dagli amfionti sviluppatisi nell' intestino, intrapresi anche una serie lunghissima di esperimenti (vedi Cap. VI, pag. 108 e seg.) che raffermarono le mie convinzioni.

## 3. Considerazioni generali.

Possiamo ora tornare alle due altre sorta di generazioni che i parassiti malarici presentano nel corpo dell' uomo e dell'Anofele. Richiamo perciò lo schema che ho già precedentemente accennato. (Vedi la Tav. A tra questa pag. e la precedente).

In tutti i Protozoi, forse in tutti gli esseri vivi, le generazioni si succedono in maniera tale da potersi graficamente rappresentare come una catena chiusa for-

([a]) Nell'*Anopheles claviger* sia allo stadio larvale che allo stadio d' insetto perfetto si trova spesso un Trematode incistato. Noto anche un Acaro ectoparassita della stessa specie di *Anopheles* allo stadio di insetto perfetto.

mata da tanti anelli: un anello rappresenta la generazione sessuata (amfigonia), e gli altri le generazioni non sessuate (monogonia). In complesso alterna una generazione sessuata con molte non sessuate; una generazione sessuata basta per permetterne molte non sessuate.

Omai questa conclusione si impone così fortemente che se nei parassiti malarici non fosse nota la generazione sessuata, allo stato attuale delle nostre conoscenze, si potrebbe dichiarare con sicurezza che il ciclo presenta un' interruzione, che manca un anello della catena. Invece, trovato questo anello, la catena forma un circuito chiuso.

A questo riguardo mi permetto una digressione.

Negli Schizomiceti, se si eccettua una notizia non ben sicura di Förster ([a]), finora non conosciamo fenomeni di fecondazione. Ho, perciò, la convinzione che noi non conosciamo interamente il ciclo evolutivo di nessun Batterio ([b]).

Quest'argomento merita tutta l'attenzione degli igienisti perchè potrebbe condurre a scoperte di fondamentale importanza. Così p. es. il non essere diventati indigeni in Europa il colera e la febbre gialla, potrebbe trovare la spiegazione nel fatto che in Europa mancano le condizioni necessarie perchè avvenga la generazione sessuata. Colla stessa mancanza della generazione sessuata si potrebbe spiegare lo spegnersi, per esempio, delle epidemie di influenza e fors'anche molti fatti di contagiosità maggiore o minore di un medesimo Batterio. L'argomento è molto interessante ed è sperabile che venga prontamente affrontato da qualche batteriologo.

*
* *

Torniamo alle generazioni dei parassiti malarici.

Paragoniamo per maggiore chiarezza le generazioni dei parassiti malarici colle generazioni presentate dal *Volvox*, quella forma singolare che i botanici mettono tra le alghe, e i zoologi tra i flagellati. La catena è essenzialmente eguale nei due casi. Infatti nel *Volvox* un amfionte si divide in due individui che come mononti continuano a dividersi per un numero grandissimo di volte, formando una colonia (cenobio) di molte migliaia d' individui, riuniti gli uni agli altri da ponti protoplasmatici.

La grandissima maggioranza degli individui di questa colonia non vanno mai incontro a una riproduzione sessuale; singoli individui soltanto subiscono una differenziazione sessuale e mostrano una grandissima somiglianza con uova tipiche e con spermatozoi: precisamente singoli individui si trasformano in una macrospora, o in un fascio di microspore. La macrospora fecondata dalla microspora costituisce l' amfionte che forma una nuova colonia.

Evidentemente abbiamo nel *Volvox* come nei parassiti malarici dell' uomo, molte generazioni non sessuate e una sessuata, colla sola differenza che nel caso del *Volvox* i mononti restano riuniti in colonia, mentre si separano gli uni dagli altri nel caso dei parassiti malarici; ciò che del resto si verifica per moltissimi altri Protozoi.

Tutti questi casi vengono senza esitazione definiti di generazione alternante o metagenesi o metagonia (tre termini sinonimi uno dell'altro), anche da Schaudinn,

([a]) Mi rincresce di non poterla citare esattamente.

([b]) La generazione sessuata dovrebbe esser quella che forma le spore durature.

l'autore che più recentemente se ne è occupato con maggior competenza. Siccome le parole generazione alternante nei Metazoi e nei Metafiti ha un significato ben differente, così, mentre da un lato propongo di sostituire alle parole suddette quella di citometagenesi, d'altra parte fornisco alcuni schiarimenti.

L'Uomo stesso, come tutti i Metafiti e i Metazoi, si comporta precisamente come i Protozoi. Il ciclo è uguale; se noi richiamiamo che ogni cellula del nostro corpo notoriamente equivale ad un Protozoo, il confronto diventa semplicissimo.

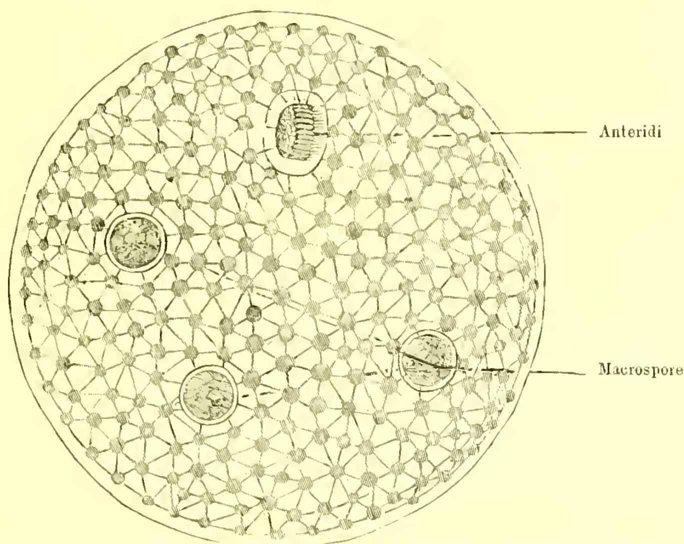



Fig. 9. — Rappresentazione schematica di una colonia di *Volvox*. I numerosissimi mononti, rappresentati dalle pallottoline, piccole non sono stati richiamati nella figura.

L' uovo fecondato (amfionte) si segmenta (generazione amfigonica) in due cellule che si riproducono un enorme numero di volte senza che intervenga una nuova fecondazione (generazioni monogoniche): viene così costituito il nostro corpo (paragonabile a un cenobio di Protozoi). La grandissima maggioranza delle cellule che costituiscono il nostro corpo, come nel *Volvox* e come nei parassiti malarici, non si riproducono altrimenti che per generazione monogonica; soltanto relativamente poche cellule subiscono una differenziazione sessuale formando uova e spermatozoi (paragonabili alle macrospore e alle microspore del *Volvox* e dei parassiti malarici).

*Se, perciò, si ammette che i Protozoi e in generale tutti gli organismi unicellulari presentano una generazione alternante, si deve ammettere che anche tutti i Metazoi e i Metafiti la presentano. Senonchè altro è in realtà la generazione alternante degli organismi unicellulari, altro è ciò che dicesi generazione alternante di un Metazoo (richiamo per es. l'echinococco, le salpe, ecc.). La generazione alternante degli organismi unicellulari trova invece riscontro nella generazione alternante delle cellule, e perciò appunto propongo sia per l'uno che per l'altro fenomeno, essenzialmente identici, il nome di citometagenesi.*

*Così considerato, il fenomeno della generazione amfigonica presentato dai parassiti malarici, diventa naturale, mentre considerato separatamente sembra strano e singolare.*

Esso presenta soltanto una modalità rispetto alla sede degli anelli della catena. Uno di essi, quello che rappresenta la generazione amfiontica, invece che trovarsi come gli altri, nel sangue dell'uomo, si trova nel corpo dell'*Anopheles*, in rapporto colla circostanza che l'*Anopheles* si nutre di sangue. L'*Anopheles* pungendo l'uomo prende dall'uomo i gameti, ripungendolo dopo un determinato tempo gli rende un enorme numero di sporozoiti, capaci di dar luogo nel corpo dell'uomo a moltissime generazioni monogoniche e a nuovi gameti.

Messo così nei suoi veri termini il ciclo evolutivo dei parassiti malarici, ognuno vede quanto sia oziosa la questione se sia l'uomo che primitivamente infettò l'*Anopheles* o l'*Anopheles* che primitivamente infettò l'uomo. Una questione simile si potrebbe sollevare per tutti gli altri parassiti che hanno due osti, uno definitivo e l'altro intermedio (p. es. le tenie).

Ho giudicata oziosa la questione dal punto di vista pratico; teoricamente invece merita di essere discussa.

Facendo punto di partenza dalla teoria dell'evoluzione, risalendo, cioè, a un'epoca in cui i parassiti malarici erano specie differenti dalle attuali, possiamo discutere se sia più verosimile che una volta il parassita malarico si sviluppasse soltanto nel corpo dei progenitori prossimi dell'uomo o che si sviluppasse invece soltanto in quello dei progenitori prossimi dell'Anofele. A questo riguardo io richiamo l'attenzione sull'amfionte quando, ancor libero, si muove nel lume del tubo intestinale. Rassomiglia allora evidentemente ad una Gregarina. Questa è la ragione principale che mi fa supporre (la mia è una semplice supposizione) che dai progenitori dell'*Anopheles* siano derivati i parassiti malarici.

Schaudinn crede di aver dimostrato che gli Emosporidi degli Amfibi (*Drepanidium*) si sviluppano come i Coccidi, senza cambiamento di oste e che l'infezione avviene come in questi, per mezzo del tubo intestinale. Conseguentemente egli suppone che il cambiamento di oste negli Emosporidi dei Vertebrati a sangue caldo sia stato acquisito secondariamente. Schaudinn perciò ritiene presso a poco che i parassiti malarici primitivamente esistessero nell'uomo o ne' suoi progenitori. Siccome il decidersi per la mia opinione o per quella di Schaudinn, sopratutto nello stato attuale delle nostre conoscenze, è subordinato piuttosto a motivi subbiettivi che obbiettivi, così non ritengo opportuno di prolungare la discussione sopra questo punto.

Nella Nota pubblicata con Dionisi si trova espressa l'opinione che l'*Anopheles* sia l'oste definitivo e l'uomo l'oste intermedio. Abbiamo denominato l'*Anopheles* oste definitivo perchè in esso avviene la generazione sessuata.

Koch dice che la zanzara è l'oste intermedio dei parassiti malarici (senza tener conto della pubblicazione fatta da me con Dionisi). Ciò troverebbe secondo Lühe una certa giustificazione nella circostanza che nel cambiamento di oste tra un invertebrato e un vertebrato, il vertebrato è l'oste definitivo e l'invertebrato, per contrario, è l'oste intermedio. Io credo che nella definizione di oste intermedio e definitivo il criterio del vertebrato e dell'invertebrato non entri, e ritengo che la distinzione di

oste intermedio e definitivo per i parassiti malarici, come è stata da me fatta, sia utile e non possa far nascere alcun equivoco. Convengo del resto nell'ammettere che i termini intermedio e definitivo sono convenzionali e si potrebbe ugualmente bene parlare di osti alternanti, o, meglio ancora, di osti sessuali e non sessuali.

Ma non è questione di parole lo stabilire, come io faccio, che l'amfionte nella tunica elastico-muscolare dell'*Anopheles* fino ad un certo momento, si presenta molto simile al mononte nel corpo dell'uomo; acquista poi forme che si possono ritenere superiori, come risulta evidentemente confrontando le figure. Anche nel corpo dell'uomo si formano sporozoiti e si produce una massa residuale in cui si concentra il pigmento. Gli sporozoiti, però, restano coi caratteri degli sporoblasti (sporozoitoblasti) che ho descritti nell'amfionte. Sono inoltre in piccolissimo numero relativamente a quelli che si sviluppano dall'amfionte.

* * *

Torniamo alla catena formata dai parassiti malarici.

Indiscutibilmente essa forma un circuito: ora si tratta di stabilire se sia un semplice circuito regolare, ovvero un circuito, che presenti delle curve secondarie; vale a dire, se le generazioni nell'uomo siano o no uniformi.

Come ho detto precedentemente, è possibile che avvengano generazioni speciali partenogenetiche in rapporto colle recidive. Queste generazioni rappresenterebbero una curva secondaria che, continuando i confronti fatti sopra col *Volvox* e coi Metazoi, troverebbe in essi un certo riscontro.

Nel *Volvox* le macrospore e le microspore si formano essenzialmente nella stagione autunnale; nelle stagioni precedenti invece delle macrospore e delle microspore, compaiono degli individui detti partenoidi i quali si comportano come la macrospora fecondata: formano, cioè, nuove colonie. Si dànno così anche nel *Volvox* delle speciali generazioni partenogenetiche paragonabili a quelle che ritengo possibili per i parassiti malarici. Nei Metazoi (s'intende che ciò che dico per i Metazoi vale anche per i Metafiti) a queste generazioni partenogenetiche sono paragonabili le generazioni partenogenetiche degli elementi maschili e femminili. Per rendere la questione più chiara credo opportuno, continuando il confronto, di far risaltare che gli spermatociti dei Metazoi trovano riscontro negli anteridi dei parassiti malarici.

Riunendo tutto insieme risulta il seguente prospetto:

| Metazoi. | | Parassiti malarici. |
|---|---|---|
| | 1° | |
| *Cellule non sessuali moltiplicantisi molte volte senza fecondazione.* | | *Mononti moltiplicantisi molte volte senza fecondazione.* |
| | 2° | |
| *Elementi maschili e femminili moltiplicantisi partenogeneticamente.* | | *Macrospore e anteridi moltiplicantisi partenogeneticamente* (?) |

| Metazoi. | | Parassiti malarici. |
|---|---|---|
| | 3° | |
| *Spermatociti.* | | *Anteridi.* |
| | 4° | |
| *Spermatozoo.* | | *Microspora* (*microgameto*). |
| | 5° | |
| *Uovo maturo* (*corpuscoli polari*). | | *Macrospora matura* (*corp. polari ?*) ([a]). |

[Potrà a taluno sembrar strano ch' io parli di partenogenesi degli elementi maschili, ma, come ha osservato acutamente Giard (55), omai possediamo le prove che si dà anche una partenogenesi maschile sì nei Protozoi (*Adelea*) che nei Metazoi (*Echinus*, *Lanice*, *Dentalium*)].

E qui forse opportuno, per mostrare tutti gli aspetti della questione, far rilevare che resta ancora da stabilire se anche nei parassiti malarici abbia luogo il fenomeno della morte naturale, cioè per senescenza.

Mi spiego. Nei Metazoi, come nei Metafiti, le cellule che non trasformandosi in cellule genitali diventano incapaci di andare incontro alla fecondazione e così ringiovanirsi, sono destinate a morire, come tutti sanno. Nel *Volvox* tutti gl' individui che non diventano macrospore, microspore o partenoidi sono pure destinati a morire. Si domanda ora se nei parassiti malarici vi siano individui incapaci di trasformarsi essi stessi in gameti o inetti a produrne altri capaci di trasformarsi in gameti. Questo problema si collega con l' altro risguardante il modo come si sviluppano i gameti e per ora non è solubile.

Un' altra curva secondaria del circuito deve essere costituita dalla moltiplicazione degli sporozoiti iniettati dall' *Anopheles* nel corpo dell' uomo. Certamente questi sporozoiti, come dimostra il loro nucleo, non sono trasformabili direttamente in sporozoiti delle generazioni monogoniche ordinarie (cioè, delle generazioni entro il corpo dell'uomo). Deve avvenire perciò almeno una generazione con caratteri particolari. Veniamo così ad avere un' altra sorta di generazione. (Tav. A, fig. 1 e 2).

Ricapitolando: nel ciclo dei parassiti malarici umani due sorta di generazioni sono state vedute, l' una *monogonica per sporogonia* (I) ripetentesi col ripetersi degli accessi febbrili nel corpo dell' uomo, l' altra *amfigonica per sporogonia* (II) verificantesi nel corpo dell' *Anopheles*.

Nel corpo dell'uomo se ne deve verificare una terza (III) in rapporto col principio del periodo d' *incubazione*, cioè subito dopo l'inoculazione degli sporozoiti; fors'anche una quarta (IV) in rapporto colle *recidive*. (Tav. A, fig. 5′-5″).

([a]) Chi volesse completare il confronto dovrebbe anche richiamare la circostanza che la proliferazione dell'amfionte dentro il corpo dell'*Anopheles* in realtà non equivale a una sola generazione, ma ad una serie successiva di generazioni, come risulta da quanto ho detto precedentemente.

Quest' ultima presumibilmente avviene per divisione o per gemmazione. Se ammettiamo che la III avvenga nello stesso modo, o anche, ciò che è più probabile, che avvenga per peculiare sporogonia, otteniamo uno schema che trova qualche riscontro fino a un certo punto in quello del *Trichosphaerium*: abbiamo un circuito con due curve secondarie nell' uno e nell' altro caso (fig. 8, pag. 123).

In conclusione quattro sono i periodi in cui può dividersi l' infezione malarica; probabilmente ad ognuno dei quattro periodi corrisponde una peculiare forma di generazione, come risulta dal seguente prospetto:

A) Infezione dell' Anofele
I. — Generazione amfigonica. (Tav. A, fig. 7-15).

B) Infezione dell' Uomo
II. — Incubazione
Generazione monogonica per sporogonia degli sporozoiti derivati dall' amfionte?
(Tav. A, fig. 1-2).

III. — Accessi febbrili
Generazioni monogoniche per sporogonia (*sporulazione* di molti autori).
(Tav. A, fig. 3, 4, 5 $A^{I}$-5 $A^{VI}$).

IV. — Recidiva a lunghi intervalli
Generazione partenogenetica?? (Tav. A, fig. $5^{I}$-$5^{II}$).

Dopo queste spiegazioni risulta chiaramente distinto ciò che è provato e ciò che rimane ancora ipotetico nel ciclo dei parassiti malarici; resta pertanto tracciata la via per proseguire nelle ricerche ulteriori.

Tutte queste spiegazioni conducono inoltre alla convinzione scientifica che i parassiti malarici umani possono trovarsi soltanto nell' uomo e nell' *Anopheles*, che non possono passare che dall' *Anopheles* all' uomo, e dall' uomo all' *Anopheles* e che bisogna escludere assolutamente il passaggio da uomo ad uomo o da *Anopheles* ad *Anopheles*.

* * *

Resterebbero da trattare i rapporti dei parassiti malarici cogli altri Sporozoi. Nello stato attuale delle nostre cognizioni, ancora assai imperfette per molte forme, questo è un punto molto difficile e pericoloso a discutersi, perchè da un momento all' altro possono venire alla luce nuovi fatti capaci di modificare profondamente o distruggere le più belle ipotesi. Certamente non esiste lo stretto rapporto che Ross ha voluto stabilire tra il *Proteosoma* e i Coccidi. Egli denomina addirittura *Coccidio* il *Proteosoma*.

Ciò non esclude che, come abbiamo già accennato io e Dionisi e come poi ha notato specialmente Schaudinn, esista un intimo riscontro tra il ciclo del *Coccidium* e quello dei parassiti malarici; ma corrono pure anche delle gravi differenze, che si possono spiegare soltanto in parte colla circostanza che i Coccidi si sviluppano senza oste intermedio.

Nello stato attuale credo giusto mantenere l'ordine *Haemosporidiida* (Sinonimo *Hemosporidies* Danilewsky (1886)) (48) in senso lato. Comprendo perciò negli Sporozoi, come Labbé, due legioni: i *Cytosporidia* e i *Myxosporidia*. Comprendo nei *Cytosporidia* tre ordini:

1° *Gregarinida*. 2° *Haemosporidiida*. 3° *Coccidiida*.

La proposta di Labbé di scindere gli *Haemosporidiida* in due ordini (ch'egli denomina *Gymnosporidiida* ed *Haemosporidiida* [pro parte]), per ora almeno non mi sembra giustificata.

Indiscutibilmente gli *Haemosporidiida* (nel senso da me accettato) hanno parentele tanto coi *Gregarinida* quanto coi *Coccidiida*.

---

CAPITOLO VIII.

# Obiezioni alla dottrina degli Anofeli.

Omai tutti ammettono che la malaria venga propagata dagli Anofeli. Che ciò possano fare anche altri insetti succhiatori di sangue ci autorizzano ad escluderlo le esperienze precedentemente esposte. Ciò nonostante da svariate parti sorge sempre la domanda se oltre agli *Anopheles* non vi siano altri veicoli di propagazione della malaria. Con questa domanda si collegano parecchie obiezioni delle quali debbo tenere il massimo conto e che mi propongo perciò di svolgere nel presente capitolo.

## 1. Luoghi malarici senza, o quasi senza mosquitos (Anofeli)?

È stato asserito da varie parti e qualcuno ancora oggigiorno insiste nel ritenere che si diano località o senza o almeno con pochi *mosquitos*, e ciò nonostante gravemente malariche.

In Italia io fui spesse volte avvertito di speciali paesi, dove ci sarebbe stata malaria senza *mosquitos*; talvolta quest'asserzione proveniva da competenti autorità mediche. Una visita sul luogo indicatomi mi condusse però costantemente e subito alla conclusione che si trattava di notizie attinte di seconda mano e messe in giro primitivamente da persone, le quali si limitavano a raccogliere le parole del volgo. Avendo già toccato l'argomento in altro Capitolo (pag. 34), qui citerò soltanto un caso che può servire da esempio istruttivo: in varie provincie dell'Italia meridionale le zanzare vengono denominate tafani; se quivi si domanda se vi sono zanzare, tutti

rispondono di no, e si può così essere indotti a credere che manchino le zanzare in luoghi nei quali ve n'ha invece un grandissimo numero.

Sta il fatto che vi sono luoghi malarici con pochissime zanzare, le quali sono allora, quasi sempre, tutti Anofeli.

Vi sono pure altri luoghi malarici dove sono pochi Anofeli, mentre vi abbondano le altre zanzare: uno di questi ultimi luoghi è Grosseto dove appunto Koch ha fatto le sue osservazioni. Nell'epoca della malaria grave in 49 abitazioni malariche della città di Grosseto l'*A. claviger*, non ostante le più accurate ricerche, è stato trovato dalla spedizione Koch 8 volte e anche soltanto in pochi esemplari, nessuno dei quali era infetto. Perciò secondo Koch nella città di Grosseto regnerebbe la malaria senza un'adeguata quantità di Anofeli: ovvero, con altre parole, gli Anofeli non basterebbero a spiegare tutti i casi di malaria di Grosseto.

A questo riguardo mi permetto di riferire in esteso la risposta da me fatta alla gravissima obieziono di Koch.

Mi recai a Grosseto il 24 settembre e restai fino al 4 ottobre. Le mie osservazioni furono da me riassunte come segue (20):

« Nella città di Grosseto in generale si trovano non numerosi *A. claviger* e abbondanti *C. pipiens*. In complesso gli Anofeli preferiscono la periferia della città e le abitazioni vicine a giardinetti, orticelli, cortili con pozzi ecc.. In qualche casa, dove degevano individui malarici, o dove c'erano stati casi di malaria, non riscontrai Anofeli alla prima visita: ne trovai quasi sempre qualcheduno nelle visite successive, specialmente quando si fecero le ricerche molto accuratamente. In generale, vicino alle abitazioni in cui c'erano casi di malaria verosimilmente autoctona, trovai dell'acqua contenente larve in varî stadî e ninfe di *A. claviger*, alle volte anche numerose. Citerò alcuni di questi focolari di Anofeli: il magazzino Sellari in via Mazzini per la casa demaniale in via Bertani; la troniera Molino a vento e il cortile annesso alla casa Scotti, per la casa Scotti, via Mazzini n. 41; l'orto annesso a casa Ferri per la stessa casa Ferri corso Carlo Alberto n. 11; l'orto dell'Ospedale della Misericordia, per l'Ospedale stesso ecc. Nelle stalle vicine alle case, in cui si era verosimilmente sviluppata la malaria, ho trovato costantemente più o meno abbondanti *A. claviger*, qualche *A. pseudopictus* e qualche *A. bifurcatus*. Avendo comunicato questi risultati, contraddicenti quelli di Koch al dott. Pizzetti, ufficiale sanitario che era stato ed è a disposizione di Koch, ne ebbi per risposta che in realtà da qualche tempo gli Anofeli si trovavano da per tutto, mentre invece mancavano quando Koch si trovava in Italia. Lo stesso Pizzetti mi comunicò che andava facendo raccogliere nelle case Anofeli per spedirli a Koch ([a]). Ciò naturalmente spiegava perchè in certe abitazioni io ne trovavo pochissimi o non ne trovavo affatto.

« Pur non sapendo nascondere la mia meraviglia per questa singolare coincidenza tra la mia visita e la comparsa degli Anofeli, cercai di spiegarmi ciò che verosimil-

([a]) Gosio (43) e Testi (51) hanno recentemente pubblicato le loro ricerche sulle zanzare raccolte a Grosseto nell'agosto e nel settembre 1900. Gli *Anopheles* nelle case di Grosseto sarebbero mancati totalmente dal 11 agosto al 10 settembre e dal 28 agosto al 21 ottobre: invece vi sarebbero stati dal 10 al 27 settembre, però in piccolissimo numero. Infatti se ne raccolsero soltanto undici; questo piccolo numero dimostra che le ricerche non erano condotte con sufficiente accuratezza.

mente doveva essere occorso a Koch. Visitai perciò le macchiette lungo le mura di Grosseto e più particolarmente le troniere e vi trovai nascosti negli arboscelli un certo numero di *A. claviger*. Il 27 settembre, alla stazione ferroviaria, verso le ore 18, sotto gli *Eucalyptus*, in pochi minuti vennero a pungerci, oltre a molti *Culex*, tre *A. bifurcatus* e un *claviger*.

« Questi fatti vogliousi collegare colle abitudini estive dei Grossetani, i quali, invece di tapparsi in casa, come accade in molti paesi malarici, al tramonto sino a notte avanzata se la spassano vicino alle loro case, gironzando qua e là lungo il Corso illuminato da luce elettrica, nel viale verso la stazione, sulla piazzetta fuori di Porta Vecchia ecc. Vi sono qua e là delle panchette ove essi siedono riposandosi a lungo. Se ora si richiama che gli Anofeli pungono specialmente al tramonto e nelle prime ore della sera, ognuno capisce che difficilmente si troveranno nelle camere da letto, dove Koch pretendeva di trovarli a preferenza. Perchè dovrebbero entrare nelle camere da letto se pungono fuori di esse, se tutti i Grossetani fanno inoltre del loro meglio perchè non vi entrino? Che in queste camere da letto si trovino invece i *C. pipiens* non fa meraviglia, perchè il *C. pipiens* è essenzialmente notturno e spesso per pungerci aspetta che siamo coricati. I *Culex pipiens* non di raro nascono nelle stesse abitazioni di Grosseto, sopratutto dalle fogne; aggiungasi inoltre che a Grosseto i *C. pipiens* sono molto numerosi, sicchè facilmente si trovano pure nelle case. Anche gli *Anopheles claviger* là dove sono numerosi, come lo sono a Grosseto i *C. pipiens*, non mancano mai nelle camere da letto. Gli Anofeli, che produssero i casi di malaria a Grosseto quando vi soggiornava Koch, dopo di aver punto, probabilmente si riparavano nelle stalle, negli orticelli, nei giardinetti, nelle troniere, negli arboscelli delle mura, in angoli remoti i più svariati ecc. L'abbassamento della temperatura che si era verificato qualche tempo prima della mia andata a Grosseto, doveva aver fatto rifugiare almeno una parte degli Anofeli nelle abitazioni.

« Del resto, le ricerche negative di Koch possono essere anche in parte spiegate colla circostanza che gli Anofeli dopo di aver prodotto l'infezione malarica fossero fuorusciti per depositar le uova. Infatti in un casello vicino a Maccarese, in agosto, gli Anofeli erano abbondantissimi; essi diventarono molto scarsi fino a mancare nella prima metà di settembre e infine tornarono ad essere abbondantissimi nella seconda metà di settembre.

« Anche ammesso dunque che la spedizione Koch abbia cercato gli *Anopheles* con tutta l'accuratezza, resta per me inaccettabile la conclusione di Koch che a Grosseto essi non bastino a spiegare i casi di malaria che vi si verificano. È doloroso che Koch abbia fatto un mistero della sua conclusione fino al 15 di settembre; altrimenti sarei intervenuto prima e avrei spiegato con tutti i particolari desiderabili l'equivoco. Invece di limitarsi a cercare nelle case e a mettere delle lampade con trappole per prendere le zanzare, egli avrebbe dovuto sedersi al tramonto e nelle ore successive davanti alle case, in vicinanza della Stazione ecc., raccogliendo tutte le zanzare che venivano a pungere. Così avrebbe potuto formarsi un'idea della frequenza degli Anofeli. Nessuno vide mai Koch od altri a fare questo lavoro, che dalle mie precedenti pubblicazioni risultava necessario, anche perchè gli *A. pseudopictus* e *bifurcatus* soltanto eccezionalmente si fermano nelle abitazioni.

« Che del resto, in certi luoghi mediocremente malarici come Grosseto, gli *Anopheles* siano scarsi, l'ho segnalato io pure (18), prima che conoscessi le pubblicazioni di Koch. In questi luoghi può darsi che non si trovi neppur un *C. pipiens*. Cito per esempio Magliana e alcuni caselli tra s. Paolo e Magliana nel settembre e in principio di ottobre del corrente anno. Sono questi i famosi luoghi, dove chi osserva superficialmente dice che c'è malaria senza zanzare.

« Koch nelle sue ricerche ha dato troppo poca importanza a ciò che la pratica ha insegnato da molti secoli; non ha tenuto nel debito calcolo soprattutto le due seguenti circostanze:

1°. In generale è più facile prendere la malaria, passando la serata all'aperto che chiudendosi in casa.

2°. La malaria diventa tanto più intensa quanto più ci avviciniamo al padule. Così è che nella città di Grosseto predominano i *C. pipiens* e sono piuttosto scarsi gli *Anopheles*: cresce alquanto il numero degli *Anopheles* nelle vicine fattorie della tenuta Ricasoli. Al Deposito dei cavalli, nelle vicinanze dell'infermeria e della farmacia, i *C. pipiens* sono già relativamante scarsi e abbondanti gli Anofeli. Nelle vicinanze del Padule i *C. pipiens* sono quasi mancanti e sovrabbondano gli Anofeli anche nelle abitazioni, per esempio, alla casina Cernaia. Questa esatta proporzione tra la intensità della malaria e la quantità degli Anofeli deve essere sfuggita al Koch, il quale, per quanto si può giudicare dalla sua breve relazione, avrebbe ritenuto la malaria di Grosseto molto più grave di quello che sia in realtà e avrebbe considerato come forme primitive molti casi di recidive. Un criterio che serve per giudicare della gravità della malaria in un dato luogo è l'infettarsi di molti individui già nel primo anno che vi soggiornano. Orbene a Grosseto sembra che ciò accada piuttosto raramente; per esempio non si è verificato per nessuna delle nove suore che attualmente si trovano a quell'Ospedale. Invece, se veramente il *C. pipiens* propagasse la malaria, Grosseto dovrebbe essere un centro gravissimamente malarico, quale in realtà non è » ([a]).

([a]) Gosio (43) a proposito dei suddetti dati riguardanti le suore ha pubblicato una rettifica che ora, in seguito a spiegazioni da lui stesso gentilmente fornitemi, per me è risultata infondata. Credo perciò inutile riferire qui minuziosamente nomi e date.

Devo invece insistere molto sulla questione delle recidive perchè il lavoro di Gosio mi ha persuaso che veramente la spedizione tedesca ha preso per forme primitive molti casi di recidive.

Prima di entrare in qualunque discussione occorre consultare i quadri e i dati statistici che illustrano il lavoro dello stesso Gosio. Purtroppo nel terzo quadro (pag. 23) nel quale sono indicati i casi di recidiva e quelli primitivi mancano i dati dal 23 giugno al 31 luglio. Per fortuna a pag. 8 si legge che nelle prime cinque settimane dopo il 23 giugno, ossia presso a poco nel suddetto intervallo dal 23 giugno al 31 luglio, si esaminarono 223 casi di cui 17 soltanto erano recidivi, ma anche quest'indicazione è incompleta perchè non si tien conto separatamente delle recidive di terzana e delle recidive di estivo-autunnali. Però siccome risulta dal secondo quadro (pag. 22) che di 211 casi verificati dal 20 giugno al 31 luglio, 62 furono di terzana e 149 di estivo-autunnali (20 dal 20 giugno al 30 giugno, 51 dal 1° al 10 luglio ecc.), si può concludere che dal 20 giugno al 31 luglio si ebbe un grandissimo numero di febbri estivo-autunnali primitive.

Questi dati contrastano grandemente con quelli esposti nel primo quadro (pag. 22) dai quali risulta che dal 21 aprile al 22 giugno si verificarono soltanto tre febbri estivo-autunnali (dal 21

Altre ricerche fatte a Grosseto nel mese di ottobre e novembre confermarono sempre più il giudizio sopra esposto. Ebbi *Anopheles*, sebbene in piccol numero, provenienti da varie case di Grosseto dove degevano dei malarici. Come in molti altri luoghi malarici, in novembre non si trovarono più le larve di *A. claviger*. Benchè i *Culex pipiens* continuassero a pungere in certo numero, cominciando dalla fine di settembre, per quanto ho potuto appurare, nella città di Grosseto non si verificarono più casi primitivi di infezione malarica, mentre invece al Deposito dei cavalli per es. tutti e tre gli individui componenti una famiglia tornati dall' estatazione (fatta sui monti nativi dell'Abruzzo), dopo il solito periodo d'incubazione, caddero preda della malaria. In questa località gli *Anopheles* erano numerosi mentre vi si trovavano in minima quantità i *Culex*.

Recentemente Schwalbe ha riunito insieme tutto quello che venne scritto finora sulla pretesa mancanza o scarsità di *mosquitos* in differenti regioni malariche. Pur troppo si tratta per lo più di osservazioni staccate, isolate, non precise e esposte sommariamente, sicchè mal si prestano ad una minuta disanima. Mi limiterò perciò ad esporle facendole seguire da brevi osservazioni dirette a provare che i fatti opposti alla teorica degli *Anopheles* sono suscettibili di una spiegazione conforme a questa.

Schwalbe cita prima di tutto Federico Plehn secondo il quale a Kamerun i *mosquitos* dànno tanto poco disturbo che egli non ha mai avuto bisogno di zanzariera.

---

aprile al 3 maggio due, dal 3 al 12 giugno uno). Se le cose stessero veramente nei termini qui riportati si dovrebbe ammettere un subitaneo scoppio grave delle febbri estivo-autunnali alla fine di giugno, ciò che riuscirebbe inesplicabile perchè agli *Anopheles* sarebbe mancato il modo d' infettarsi e quindi la possibilità d' infettare l'uomo. Il fenomeno, invece, non presenterebbe più nulla di strano se si ammettesse che, come io ritengo, un gran numero delle febbri estivo-autunnali verificatesi dopo il 20 giugno, siano state casi di recidive invece che d' infezione primitiva.

Per definire possibilmente se debba accettarsi il mio modo di vedere o quello di Koch e Gosio, occorre esaminare i criteri sui quali questi due autori basarono il loro giudizio di infezione nuova.

Nel lavoro di Gosio, a pag. 37, si legge in proposito quanto segue: « Studiando invece le recidive in località infetta, urtiamo, per lo più, contro lo scoglio della difficoltà di discernere se trattasi di vera recidiva o non piuttosto di una *nuova infezione*. In singoli casi, il dubbio è facile a togliersi, per la differenza del reperto (ad es. un infermo già guarito di terzana, che si ripresenta coi parassiti di un estivo autunnale o viceversa.....); negli altri casi, a stretto rigore, non sarebbe possibile conchiudere, se non in via di probabilità. Cotali incertezze, peraltro, non hanno nel nostro caso, che un' importanza teoretica e trovano conveniente riparo: 1° perchè le nostre deduzioni emergono da un gran numero di osservazioni; 2° perchè si computarono come recidivi soltanto i casi, in cui l'accesso, supposto recidivale, fosse avvenuto entro cinque mesi dalla pregressa guarigione; 3° perchè di fronte ai casi curati ne stavano moltissimi lasciati a sè, e che, perciò fungevano da opportuni controlli. Si tratta, insomma, di leggi a base di grandi numeri e di molti confronti, come si esige per un'applicazione pratica ».

A vero dire, gli argomenti di Gosio mi sembrano affatto insufficienti per le seguenti ragioni:

1°. Le leggi a base di grandi numeri e di molti confronti possono essere prossime al vero, ma anche molto e grandemente erronee, a seconda dei casi.

2°. È accertato che le recidive possono avvenire anche dopo cinque mesi.

3°. La differenza del reperto non conchiude potendo un individuo avere un' infezione mista e a intervalli presentare il reperto di forme diverse.

Quanto ho detto più indietro a proposito dei costumi degli *Anopheles* toglie qualunque valore a questa obiezione. È verosimile che a Kamerun vi siano poche zanzare e che esse siano tutte o quasi del gen. *Anopheles*.

Il dott. Johnson ha raccontato a Schwalbe che in una stazione di missionari a circa 75 miglia inglesi da Kamerun e posta in montagna, non vi sono *mosquitos* e invece si verificano moltissimi casi di malaria nei negri.

Osservo a questo riguardo che probabilmente i negri s' infettano di malaria lavorando al piano.

Anche Bannerman raccontò a Schwalbe di una stazione del Congo francese (Foula bi Foum Angom) dove la malaria è terribile, ma non ci sono *mosquitos*, avendoli distrutti interamente una sorta di libellula.

Oppongo io: probabilmente questa libellula non li avrà distrutti tutti!

Duggan osserva che alla costa occidentale dell'Africa i *mosquitos* sono rari e durano pochissimo tempo.

Schwalbe cita anche Thin: questi nel 1895 osservò che a Sierra Leone la febbre malarica è terribile mentre i *mosquitos* sono pochi.

Io credo, conchiude Schwalbe, che questi dati siano sufficienti per dimostrare che in luoghi i quali sono in fama di terribilmente infetti di malaria, come, ad esempio, la costa occidentale dell' Africa, i *mosquitos* non possono essere i propagatori della malaria.

Fortunatamente proprio mentre Schwalbe scriveva il suo opuscolo, la missione inglese presieduta da Ross dimostrava che a Sierra Leone vi sono gli *Anopheles* in sufficiente quantità per render conto della malaria che vi domina!

Dodd, citato da Schwalbe, scrisse che a Talas nell'Asia Minore c' è malaria e non *mosquitos*. Dopo quanto ho or ora riferito, questo *preteso* fatto, per ora non controllabile, non può certamente pesare sulla bilancia!

Il Dottor Taylor curò in Sag Harbor una donna di 82 anni, che da 4 anni non aveva abbandonato la casa, eppure era affetta di malaria, coi parassiti nel sangue; ciò nel cuore dell' inverno; subito dopo si ammalò la figlia della stessa malattia. La malattia potè venir guarita col solo allontanare dalle camere certi vasi con piante. In un' altra casa si ammalò un fanciullo che ugualmente guarì allontanando i vasi con piante. Lo stesso dottore esaminò in quattro differenti luoghi il sangue di giardinieri che avevano serre, riscontrandovi il parassita della malaria. Questi non erano malati, ma non erano mai stati bene del tutto; il chinino in grande quantità migliorò la loro salute.

In tutti questi casi, scrive Schwalbe, non poteva parlarsi di *mosquitos*.

Molte osservazioni si possono fare sui fatti riportati da Taylor: le piante servono di nascondiglio agli Anofeli; nelle serre calde certamente essi possono essere infetti anche d' inverno. D'altra parte non è provato con tutta la sicurezza desiderabile che i giardinieri suddetti fossero infetti di malaria ecc.

Schwalbe cita anche Schimmer il quale in Grünberg trovò i minatori infetti di malaria, mentre gli altri individui ne erano esenti.

Anche questo fenomeno dovrebbe essere meglio studiato: d'altra parte mi è noto che gli *Anopheles* hanno l'abitudine di ripararsi nelle grotte dove la temperatura può mantenersi relativamente elevata ecc.

Schwalbe cita anche un fatto di Simon. A bordo di un bastimento da guerra in alto mare, scoppiò un'epidemia di malaria; i marinai da lungo tempo non erano stati su terra ferma. Una visita dimostrò la presenza di fango in un punto del bastimento vicino al quale dormivano i marinai. L'epidemia scoppiò dopo che si ebbe occasione di riscaldare uno spazio vicino al fango, il quale perciò ebbe a subire un elevamento di temperatura.

Ai *mosquitos*, dice Schwalbe, qui non si può pensare. Osservo io invece che se per caso si fossero riparati sul bastimento degli *Anopheles*, molto probabilmente avrebbero potuto trovare nel fango qualche pozzangera per moltiplicarsi. Manca inoltre la sicurezza che si trattasse veramente di malaria ecc.

Hirsch ha raccolto, secondo Schwalbe, altri casi di malaria scoppiati su bastimenti, casi che ugualmente depongono contro i *mosquitos*.

Anche a quest'ultimo punto, del resto appena accennato da Schwalbe, si può rispondere colle considerazioni precedenti.

Schwalbe cita anche il fatto che il dormire 1-2-3 metri sopra il suolo protegge moltissimo dalla malaria. Nei luoghi malarici più svariati io però ho potuto constatare che queste piccole altezze non giovano punto. (Vedi pag. 93).

Schwalbe parla pure di movimenti nel suolo che produrrebbero malaria senza che si formino paludi le quali possano servire allo sviluppo dei *mosquitos*.

L'asserzione di Schwalbe è facile; io, però, desidererei che la dimostrasse. Nei movimenti di terreno che diedero luogo allo sviluppo di malaria, per quanto risulta dalle notizie da me raccolte, si formarono sempre degli impaludamenti, sebbene talora piccolissimi. Di regola non può accadere diversamente in un terreno ricco d'acqua più o meno superficiale, come è in genere quello malarico.

Schwalbe accenna anche al suolo completamente coperto di acqua che disseccato diventò fonte di malaria; così i *polders* in Olanda vennero spesse volte formati nell'estate, ma si svilupparono tali epidemie malariche che si dovette inondare di nuovo la località, ottenendo per effetto la cessazione della febbre (Sebastian: 1815). Perciò, esclama Schwalbe, quando c'era acqua che favoriva lo sviluppo dei *mosquitos*, non c'era febbre!

Orbene, l'acqua senza alcuna vegetazione superficiale è contraria allo sviluppo degli Anofeli, da ciò la salubrità di molte località nei dintorni dei laghi ([a]), per es. del

([a]) In una recente pubblicazione di Pagliani si trovano a questo riguardo dei dati più precisi. Egli nota che « attorno ai nostri laghi si può verificare immunità completa dalla malaria per grande estensione del loro circuito dove le sponde sono regolari e quasi normali allo specchio dell'acqua, mentre così non è dove queste si protendono molto innanzi a lieve pendìo entro l'acqua che le bagna irregolarmente ed a strati sottili. In queste aree perimetrali di bacini acquei a fondi molto bassi, la temperatura può essere talora di alcuni gradi più alta che nel rimanente specchio dell'acqua. Questa maggior temperatura dei sottili strati di acqua deve farli naturalmente molto preferire dagli Anofeli femmine per la deposizione delle uova, come pure dalle larve che ne risultano per il loro sviluppo ».

Io ritengo che la temperatura dell'acqua non eserciti direttamente un'influenza sugli Anofeli, ma ne favorisca indirettamente lo sviluppo facendo prosperare quella vegetazione che offre agli Anofeli un ambiente opportuno.

ord d' Italia. Forse i luoghi, dove si formarono i *polders*, erano come i nostri laghi. Per effetto del suddetto prosciugamento saranno restati dei piccoli acquitrini, nei quali favoriti dalla vegetazione palustre rigogliosa, gli *Anopheles* avranno potuto prosperare. Fors' anche lavorarono al prosciugamento alcuni operai già infetti di malaria, questi diedero luogo al diffondersi della malattia, per mezzo degli Anofeli.

In Costarica nell'alta valle di San José, Schwalbe non osservò *mosquitos* ma molti casi di malaria, anche in fanciulli che non avevano abbandonato la detta località.

Tutti questi fatti, dopo quanto ho sopra esposto, perdono moltissimo del loro valore; io sono persuaso che, riveduti da persone che conoscano i nuovi studî, potrebbero facilmente spiegarsi, senza sollevare alcun dubbio contro la teoria dei *mosquitos*. Il fatto di Sierra Leone, sopra esposto, giustifica pienamente questa mia presunzione.

Io ho trovato un altro oppositore in Alberto Plehn. Egli cita la stazione Iossplatte ove le zanzare sono scarsissime e la malaria è gravissima; aggiunge che a Kribi devono mancare interamente.

Queste osservazioni si riferiscono ancora all'Africa occidentale e vale per esse quanto ho detto precedentemente ([a]) ([b]).

## 2. Malaria propagata coll'acqua?

Secondo alcuni la malaria si potrebbe propagare anche per mezzo dell' acqua. Si citano a proposito molte autorità e molti fatti.

Ha trovato favore presso gli igienisti il fatto riferito da Boudin (1848). Questo rinomato epidemiologista francese, descrisse minutamente una epidemia malarica scoppiata sopra una nave da guerra, e prodotta apparentemente dall'acqua bevuta. Il fatto di Boudin per fortuna è stato vagliato dai più eminenti studiosi di malaria; ed essi conclusero col ritenere che l' osservazione di Boudin non è provativa, sopratutto perchè non si può escludere che i soldati avessero potuto infettarsi prima di imbarcarsi sulla nave e non si può dimostrare che si trattasse veramente di malaria ([c]).

Bisogna tener presente che se la malaria sui bastimenti potesse venire propagata dall'acqua, casi simili si sarebbero verificati moltissime volte e oramai non ci sarebbe più nessun dubbio in proposito.

Le società ferroviarie Italiane fecero gravi sacrifici per fornire ai loro impiegati delle zone malariche buona acqua potabile costantemente e in una certa quantità, trasportandovela da luoghi non malarici. Non ebbero però il piacere di riscontrare in alcun caso una sensibile diminuzione dei casi di febbre malarica (Blessich ecc). Si potrebbe, è vero, osservare che la maggior parte degli impiegati delle zone malariche

([a]) Nel secondo rapporto della Spedizione Koch per la malaria, si leggono altri fatti a confutazione della supposta esistenza di luoghi malarici senza zanzare.

([b]) Recentissime osservazioni da me fatte in Grosseto mi autorizzano ad asserire che in questa città si trovano Anofeli in sufficiente numero per spiegare l'epidemia malarica, alla quale essa va soggetta. Sui particolari tornerò in un lavoro speciale.

([c]) Ugualmente dubbia è quell'epidemia d'intermittente che si sarebbe osservata a Versailles in un reggimento di cavalleria che aveva bevuto acqua palustre.

per gli usi domestici adoprano l'acqua del luogo e quindi pur non bevendola, indirettamente ne introducono nello stomaco una certa quantità; si può andare oltre e osservare che in realtà la malaria sulle linee ferroviarie è in diminuzione; ma questa diminuzione (Vedi pag. 177) si deve spiegare col largo uso del chinino che oggi riconosciamo essere non soltanto un mezzo curativo ma anche un mezzo preventivo e colla circostanza che molti acquitrini e stagni vicini alle ferrovie vennero a poco a poco soppressi con grande vantaggio degli impiegati ferroviari.

Se qualcuno serba ancora nell'animo un po' d'incertezza, ricordi il seguente fatto citato da Celli: « Lungo la linea ferroviaria Roma-Tivoli, la quale con quella di Civitavecchia gode nel Lazio il triste primato della malaria, ad ogni casello ferroviario fu portata, con una conduttura speciale, una fonte perenne d'acqua Marcia, nella speranza che con un'acqua così buona sarebbero scomparse le febbri. Ma invece l'estate scorso del personale ferroviario ammalarono tutti, salvo tre, i quali rimasero immuni, come vedremo, per la loro speciale resistenza individuale ».

Altro fatto interessante è il seguente. Nel grande reclusorio di Castiadas in Sardegna l'acqua potabile è ottima, eppure la malaria vi infierisce!

Furono eseguite anche esperienze su larga scala, facendo ingerire acque di luoghi malarici ad uomini di luoghi sani. Così Celli, Brancaleone, Zeri e Salomone Marino dimostrarono che con l'ingestione di acqua paludosa non si prende mai la febbre malarica.

Alle stesse conclusioni giunsero fuori d'Italia i medici forestieri. All'isola di S. Tommaso (Guinea), si ha ottima acqua potabile e gravissima malaria. L'acqua del Nilo nonostante che il fiume provenga da luoghi terribilmente malarici non produce punto malaria nelle regioni del deserto che attraversa. Nella città di New-York negli anni 1865, 66, 67 v'erano parti sane e parti malariche, nonostante che l'acqua potabile ottima fosse comune a tutta la città ecc. (Schwalbe).

Alla costa occidentale dell'Africa i bianchi bevono o acqua minerale importata o acqua piovana bollita, ciononostante si ammalano spesso di malaria. Alla stessa costa occidentale dell'Africa si è notato lo sviluppo della malaria in molte persone, che non avendo abbandonato mai il loro bastimento, avevano bevuto soltanto l'acqua della quale questo era provvisto. In tale caso la malaria dovevasi ascrivere alla circostanza che il bastimento si era troppo avvicinato alla costa (F. Plehn).

Norton ha dimostrato che in molte fortezze americane, in cui la malaria è endemica non si ottenne nessun vantaggio coll'introduzione di acqua potabile buona.

Restano a favore dell'acqua gli esperimenti di Ross: ma oggi lo stesso Ross non mostra più di aver fede in essi!

Potrei continuare a esporre una serie lunghissima di fatti, se non temessi di annoiare il lettore. Dirò soltanto che anche l'acqua piovana dei luoghi malarici, come pure la rugiada (raccolta con palloni di vetro pieni di ghiaccio), amministrate per le vie digerenti, si sono mostrate incapaci di propagare la malaria.

Che però nei luoghi malarici tutti siano persuasi che l'uso di acqua non buona, sia fomite di malaria, è un fatto innegabile, ed io, per quanto non abbia avuto tempo di raccogliere una serie lunga di fatti, credo di appormi al vero spiegandomi questa persuasione colla circostanza che nei malarici l'acqua di cattiva qualità,

producendo disturbi intestinali, occasiona molti casi di recidiva. Soltanto così posso rendermi conto di una serie di osservazioni fatte anche da medici degni di fede. Raccomando perciò ai clinici l'ulteriore svolgimento di questo interessante problema.

Le prove sperimentali riportate più sopra per dimostrare che la malaria non può avere per veicolo l'acqua potabile, sono, dirò così, grossolane ed empiriche: esse vengono confortate molto dalle seguenti ricerche da me compiute seguendo il nuovo indirizzo.

I parassiti malarici, in qualunque stadio di sviluppo si trovino, sia nel corpo dell'uomo, sia nel corpo dell'*Anopheles*, appena messi nell'acqua prontamente si alterano e muoiono. L'osservazione venne da me fatta e ripetuta le cento volte. Ciò del resto era già ammissibile *a priori*, vista la struttura dei parassiti in discorso, la mancanza di una propria cisti, la mancanza di vacuoli contrattili, ecc. I confronti zoologici con gli altri sporozoi forniscono un'altra controprova, non essendovi alcuno sporozoo capace di vita libera senza essersi previamente incistato.

Aggiungasi che anche la prova di mangiare Anofeli infetti fu da me fatta e ripetuta senza alcun risultato.

Potrei con l'esposizione di tutti questi esperimenti riempire qualche pagina, ma sarebbe opera inutile. Dirò soltanto che specialmente colle così dette spore brune ho molto insistito nelle prove, ancorchè fossi persuaso che rappresentino fenomeni d'involuzione.

### 3. Acquazzoni malariferi?

È ferma credenza di tutti i frequentatori de' luoghi malarici che gli acquazzoni nella stagione malarica producano molti casi d'infezione. Quando d'estate il cielo si oscura, in una zona malarica, la povera gente guarda le nubi con terrore dicendosi: se oggi piove, domani non basteranno i carri per condurci all'ospedale!

In realtà, se si tien dietro, come io ebbi occasione di fare molte volte, nella scorsa stagione malarica, agli effetti degli acquazzoni, si constata che ben spesso si riversano sulle spalle dei poveri campagnoli torrenti d'acqua senza che s'ammalino di febbri palustri ([a]). Qualche volta, al contrario, dopo un acquazzone, in meno di 48 ore, parecchi individui cadono in preda delle febbri malariche. I medici pratici raccontano dei casi in cui numerosissimi individui, per es. quasi tutti gli operai d'una tenuta, s'ammalarono in seguito a pioggie che li infradiciarono.

Come si spiegano questi fatti? Mentre piove, gli Anofeli non pungono: che c'entrano dunque gli Anofeli?

Evidentemente la pioggia può essere occasione dello sviluppo di una malaria latente, che forse senza la pioggia non si sarebbe sviluppata; molte volte poi essa può occasionare delle recidive.

Nel mio inserviente, che non era mai stato malarico, la febbre si manifestò 24 ore dopo ch'egli era stato sorpreso in aperta campagna malarica da un acquazzone; sta

([a]) Il dottor Dionisi ha fatto per suo conto simili osservazioni, ma molto più precise.

però il fatto che nelle settimane precedenti era stato punto dagli Anofeli. Anche su me si rovesciò l'acquazzone; ma io, non essendo stato precedentemente punto dagli Anofeli, me la cavai con un semplice raffreddore. Anche altri miei impiegati furono ripetutamente sorpresi in aperta campagna malarica da rovesci d' acqua senza che nessuno andasse incontro alla malaria, contro la quale c' eravamo premuniti, non lasciandoci pungere dagli Anofeli.

In breve si può dire che gli acquazzoni possono essere l' occasione di far sviluppare la malaria che sia già in incubazione, ovvero, ciò che accade più frequentemente, di far recidivare individui ancora malarici, benchè da tempo non febbricitanti.

Perciò chi ci ha fatto l' obiezione ha confuso la causa con una occasione, o concausa che si voglia dire.

Ciò che nel suddetto caso del mio inserviente ha fatto l'acquazzone, l' hanno fatto in altri i bagni freddi, l'abuso del ghiaccio ecc.

La clinica nè in questi casi, nè in alcun altro è in contraddizione colla dottrina degli Anofeli. Occorre soltanto che essa ricorra agli zoologi per aver la spiegazione dei fatti.

## 4. Malaria per mezzo dell'aria?

La malaria si propaga per mezzo dell'aria, come dice il nome. « È l'aria cattiva, dicono gli abitanti dei luoghi malarici, son gli effluvi delle paludi, la putrefazione delle piante palustri che producono la malaria. La malaria si sprigiona, dicono molti medici, dal terreno che, disseccandosi nei mesi estivi, si spacca! Volete conoscere la vera natura della malaria? Badate all' odore che d'estate manda la terra riarsa quando cadono quattro gocce di acqua: è un'esalazione speciale, foriera di numerose infezioni malariche! »

Queste credenze sono così radicate nei luoghi malarici che, per quanto facciate e diciate, ve le sentite ripetere su tutti i toni senza la menoma esitanza. Esse rappresentano la più grande difficoltà che noi incontreremo nel mettere in pratica la nuova teorica.

La più importante controsservazione che io possa fare a questa obiezione deriva dal fatto che i parassiti malarici in nessun momento della loro vita possono entrare nell' aria atmosferica, se non come corpi morti. Il disseccamento produce infatti la morte dei parassiti malarici in qualunque stadio di sviluppo si trovino nel corpo dell' uomo o in quello dell'Anofele.

Ho però fatto anche molte prove dirette. Nel 1898 io portai a Rovellasca luogo non malarico, una certa quantità di *Anopheles* pigliati a Locate Triulzi, luogo molto malarico, nell' epoca in cui la malattia infieriva gravemente, e li lasciai liberi in camere da letto di individui sani. Quivi morirono, disseccarono e andarono in polvere senza che si avesse a lamentare alcun caso di malaria. (Vedi pag. 19).

L'esperimento venne da me ritentato nelle più svariate condizioni durante l'anno scorso e posso dire con sicurezza che gli Anofeli infetti, disseccati e polverizzati in un ambiente sano, non propagano la malaria.

Ad ulteriore riprova citerò i seguenti fatti:

Io e non meno di altre nove persone, in molte occasioni durante la stagione delle febbri (1898-99), ci esponemmo all'aria malarica senza che mai nessuno di noi si ammalasse, *perchè evitavamo le punture degli Anofeli.*

Ciò che ci accadde a Francavilla-Angitola in Calabria l' 11 settembre, è particolarmente degno di considerazione. Nella Calabria la credenza che il dormire nel luogo malarico sia causa d' infezione domina tanto che, se, per esempio, vi addormentate di giorno in una stazione, chiunque si crede in dovere di destarvi, avvertendovi del pericolo a cui andate incontro. Ciò nonostante, nel meriggio del suddetto giorno che era afoso e rannuvolato, io e due miei aiuti, non potendo resistere al sonno, dormimmo saporitamente per un paio d'ore al margine di quel piccolo pantano che si trova vicino alla linea ferroviaria, presso il fiume Angitola. Prima di addormentarci ci eravamo persuasi che nel posto dove riposavamo (esposto alla luce e alquanto discosto da alcuni alberi) gli *Anopheles* non venivano a pungere, mentre invece annoiavano terribilmente i *Culex penicillaris* e *malariae.* Quando ci destammo, avevamo le tracce di numerosissime punture: per rassicurarci che fossero di *Culex*, esaminammo una per una tutte le zanzare che avevamo catturato prima di addormentarci e non trovammo un sol Anofele tra circa 200 *Culex.* Nessuno di noi si ammalò, nonostante che prima di ritornare alla stazione ci sorprendesse un'acquerugiola che ci penetrò fino alle ossa, senza che potessimo aver l'occasione di mutarci gli abiti. Aggiungasi che, in assenza del capo stazione, non ci permisero di ripararci nella sala d'aspetto, lasciandoci così esposti alla pioggia quasi per mezz'ora. Un cacciatore che s' era soltanto bagnato aspettando, come noi, fuori della Stazione, con vero terrore pensava alla dimani, sicuro che la malaria l'avrebbe invaso, perchè Francavilla-Angitola negli annali della malaria gode una triste celebrità!

Un esperimento importante venne fatto da me nell'anno 1898:

Una donna con tre bambini, appartenenti a famiglia che abita in parte a Locate Triulzi (paese malarico) e in parte a Rovellasca (paese non malarico), doveva per ragioni d'affari trasportarsi appunto da Rovellasca a Locate Triulzi. Cogliendo la bella occasione al balzo, proposi alla donna suddetta di preservar lei e i tre bambini dalle punture delle zanzare almeno fin dove era possibile. Essa si sottopose alle mie prescrizioni, che consistevano nel chiudersi nella camera da letto, ove accendevo parecchi zampironi, da poco prima del tramonto a qualche tempo dopo, ossia nelle ore in cui le zanzare pungono moltissimo. Prima e dopo non si usava alcuna cautela tranne quella di evitare possibilmente le punture delle zanzare, allontanandole o riparando con un velo i bimbi quando dormivano, accendendo zampironi ecc.

Non ostante tutte le attenzioni, non si è potuto però impedire che uno dei bambini ricevesse per lo meno 4 o 5 punture di *Culex penicillaris.*

La prova durò 15 giorni, passati i quali la madre dovendo tornare a Rovellasca gentilmente acconsentì a ricondursi seco anche i bambini. La madre e due dei tre bimbi non s' infettarono di malaria; un bimbo, precisamente quello che ricevette le 4 o 5 punture, al nono giorno dopo che era tornato a Rovellasca, ebbe forse una leggera febbre, all' undicesimo giorno un accesso indiscutibilmente febbrile. Al dodicesimo giorno io esaminai il sangue del bimbo, ma il reperto riuscì negativo. Sarebbe stato interessante seguire ulteriormente questo caso, ma io ritenni mio dovere di ammini-

strare ripetutamente il chinino, senza verificare ulteriormente la natura della febbre. Dovendo partire da Rovellasca per tornare a Roma, pregai di avvertirmi se la febbre fosse riapparsa; non avendo ricevuta notizia, credetti che non si fosse ripetuta come appunto pubblicai nella Nota ai Lincei. Più tardi seppi che la febbre in realtà era ritornata, ma seguìta da eruzione morbillosa, che pochi giorni dopo invase gli altri due bambini; ed essendo il morbillo evidentissimo, non si era creduto opportuno di avvertirmi. Il primo dei bambini non prese altro chinino; gli altri due non ne presero affatto; tutt'e tre guarirono rapidamente. Evidentemente dunque si trattava di morbillo e non di malaria.

La suddetta prova acquista importanza quando si pensi che al dodicesimo giorno della prova cadde affetto di febbre malarica un altro bambino della stessa famiglia, che si trovava già a Locate, che quest'anno non aveva avuto febbre, ma che non si era sottoposto alla suddetta cura preventiva ed era perciò stato punto da molte zanzare palustri.

La prova durò dal 27 agosto al 12 settembre. Circa dieci anni fa la stessa donna, presso a poco nella stessa epoca, era andata a Locate con altri quattro ragazzi; s'era fermata press'a poco 15 giorni tornando a Rovellasca coll'infezione malarica essa e tre dei quattro ragazzi!

Molto importante è quest'altro esperimento. Dal giorno 3 all'11 agosto 1899, io e i coniugi Mancori coi loro 5 figli, abbiamo dormito al casello 35, il primo dopo la stazione di Maccarese per chi viene da Roma. Occupavamo due camere del piano superiore, quelle della parte del casello opposta alla stazione di Maccarese. Il giorno precedente all'esperimento avevo preso tutti gli Anofeli che si erano potuti trovare (circa una sessantina) nelle camere suddette; poscia in esse, tenendo chiuse le imposte, avevo acceso molto zolfo al momento di uscire. Passavamo la giornata in Roma; arrivavamo a questo casello alle ore 18 $^1/_2$ circa e ripartivamo il mattino alle 7 $^1/_2$ circa. La prima sera non avevamo messo una tenda nella camera, a cui corrispondeva la porta del nostro appartamento, nè avevamo acceso zampironi prima d'entrarvi. Forse per queste trascuranze, avendo bruciato dello zolfo, dopo che eravamo entrati, vedemmo comparire sui vetri una trentina tra *Culex* e *Anopheles*, che vennero uccisi. Alla sera del secondo giorno non trovammo più alcuna zanzara nella camera; tuttavia sul far del giorno seguente il Mancori sentì un ronzìo. Avendomi avvertito alle ore 6 dopo minuziosissime ricerche, trovai 2 *Anopheles* pieni di sangue succhiato di recente. Esaminatili a Roma, fortunatamente constatai che non erano infetti. La notte seguente catturammo nelle nostre camere ancora due *Anopheles* rimpinzati di sangue e uno vuoto; nei giorni successivi non se ne trovarono più.

È d'uopo aggiungere che dormimmo sempre colle finestre aperte, protette soltanto dalla rete metallica.

La durata dell'esperimento fu breve, ma ciò nonostante non ha piccolo valore quando si pensi che nella località dove fu fatto e nei dintorni, notoriamente, la stagione malarica era cominciata dalla metà di giugno e si erano verificati molti casi, e molti altri si sarebbero verificati, se gli abitanti non fossero emigrati in gran parte in luoghi sani. In vicinanza al casello, contemporaneamente a noi si trovava una famiglia di spigaroli (padre, madre e due figli), che dormivano in una capanna.

Restarono sul luogo circa 10 giorni; tornati a Roma si ammalarono tutti, almeno i due figli per infezione primitiva. Anche parecchi pagliaroli, che lavoravano vicino a noi, si ammalarono (infezione primitiva?) nei giorni in cui noi ci trovavamo al casello; uno però probabilmente si era prima infettato ad Ostia.

La famiglia Mancori passò dieci interi giorni nel mese di ottobre dentro il casello suddetto; soltanto il marito veniva di tanto in tanto a Roma. In quell'epoca la malaria era in diminuzione, ma ancor ben lungi dal cessare.

Nessun individuo della famiglia in discorso si ammalò.

Tutti questi fatti, riuniti assieme, hanno riconfermato in me la convinzione che la malaria non si può prendere con l'aria.

## 5. Malaria da sterri?

Vengono citati molti esempi di sterri che diedero luogo a gravi epidemie di malaria (ho già più sopra toccato quest'argomento). Restarono sopratutto memorande in Italia quelle che si svilupparono all'epoca in cui si costruirono le nostre principali linee ferroviarie e all'epoca in cui Roma, diventata capitale d'Italia, fu ampliata e riedificata in molte parti.

È difficile invece oggigiorno trovare in Italia una buona occasione di seguire un'epidemia malarica collegata con movimenti di terra. A me non si è ancora presentato nessun caso simile; tuttavia dopo aver assunto informazioni in luoghi svariatissimi e anche presso impresarî di opere pubbliche eseguite a Roma e nei dintorni specialmente verso il 70, credo di poter seriamente spiegare il fenomeno nel seguente modo.

I movimenti di terra nei luoghi malarici o nei luoghi risanati sono molto spesso accompagnati da formazione di acquitrini, di pozzanghere, nelle quali facilmente si sviluppa la vegetazione palustre. Gli sterri così dànno luogo ad ambienti favorevoli allo sviluppo degli Anofeli, i quali vi accorrono sopratutto nei mesi estivi, quando l'acqua è scarsa. Si capisce pertanto come si formino dei focolai di malaria e come la malattia possa diffondersi facilmente anche per il fatto che tra gli operai non sogliono mai mancare alcuni che già ne sono affetti.

Ad avvaloraro la mia spiegazione, aggiungerò:

1. Che sono notissimi molti casi di sterri, i quali diedero veramente luogo alla formazione di paludi. Nel 1869 Baccelli scriveva: « I grandi diboscamenti per le costruzioni ferroviarie, le colmature dei terreni sui quali poggiano le linee, colmature operate scavando lateralmente, hanno organizzato il padule conducendolo di tal guisa sino entro la cinta delle nostre mura. E le febbri da malaria toccarono in questi ultimi tempi ad una frequenza e ad una intensità inusitata ». Tutti gl' impresarî ricordano fatti simili e basta che noi stessi percorriamo le ferrovie italiane e sopratutto le ultime costruite per trovare altre prove dello stesso genere. Oggigiorno essendo omai troppo noti i gravi danni dei suddetti impaludamenti, gli impresarî di opere pubbliche cercano di evitarli, anche facendo uso di pompe almeno in vicinanza ai centri popolati, dove perciò la malaria da sterri si fa di solito sentire molto meno.

2. Che nei recenti scavi compiuti nel Foro Romano, in Roma, ho potuto constatare veramente la comparsa delle larve di *A. claviger* alla fine di agosto, in certa acqua chiara vicino alla cosidetta tomba di Romolo ([a]).

Richiamo poi l'attenzione anche sulle seguenti circostanze:

I. Non tutti i casi di malaria che sono stati attribuiti agli sterri debbono accogliersi come indiscutibili. Molto verosimilmente non poche volte si trattava non già di febbri primitive, ma di recidive, come dimostrava la mancanza del solito periodo d'incubazione. In altri casi infine si è certamente attribuito agli sterri la malaria presa indipendentemente da essi.

II. Gli sterri non accompagnati dalla formazione di pozzanghere di qualche durata non dànno luogo allo sviluppo di malaria, perciò la recentissima costruzione del fognone di Roma a S. Paolo riuscì veramente innocua, come io ho potuto assicurarmi, con informazioni prese direttamente dai lavoratori.

III. I movimenti di terra, fatti in luoghi sani a parecchi chilometri di distanza dai luoghi malarici, non sono occasione, almeno in generale, di febbri malariche, perchè gli Anofeli non possono arrivarvi.

IV. Ho già accennato che tra gli operai che lavorano agli sterri nei luoghi malarici ve n'è spesso qualcuno già in preda all'infezione. Esso infetta gli Anofeli che si trovano nella località e questi alla lor volta gli operai sani. Sorgono così, in luoghi già disabitati e ritenuti non molto infestati di malaria, delle gravissime epidemie di questa malattia.

Riunendo tutto insieme, possiamo asserire senza tema di errare che gli sterri in quanto favoriscono la vita degli Anofeli e dànno a questi occasione di infettarsi, costituiscono un fomite di malaria.

## 6. Malaria in luoghi disabitati.

Si narra di viaggiatori che s'infettarono di malaria entrando in luoghi da tempo immemorabile disabitati, dove fors' anco l'uomo non aveva mai messo piede.

Contro questa obiezione oppongo le seguenti osservazioni:

1. I cugini Sarasin nel loro celebre viaggio nell'isola Celebes avrebbero osservato, per quanto mi dissero, che in verità la malaria si prende a preferenza in vicinanza ai luoghi abitati.

2. Gli Anofeli seguono l'uomo e lo dimostra ciò che accade durante la mietitura e la trebbiatura del grano nella Campagna Romana. Quivi i contadini hanno l'abitudine di dormire sul luogo del lavoro, talvolta ad una certa distanza dalle case di campagna, sotto tende o in capanne improvvisate, le quali vanno mano a mano popolandosi di Anofeli (pag. 92 e 93).

Si può perciò ritenere che gli Anofeli accompagnino i viaggiatori nelle loro tappe e li infettino, lasciando loro credere di essersi infettati in luoghi disabitati, specialmente se non tengono conto del periodo d'incubazione.

([a]) Non c'era vegetazione palustre, vivevano però ancora in parte delle piante terrestri che si trovavano già sviluppate sulle pareti prima che le bagnasse l'acqua.

3. Basta inoltre che tra i viaggiatori vi sia un malarico, perchè gli Anofeli possano infettarsi anche in un luogo deserto a qualunque distanza da un centro abitato; una volta infettatisi naturalmente possono alla lor volta infettare gli uomini ecc. ecc.

## 7. Malaria presa in treno.

Si obbietta che talvolta si prende la malaria viaggiando per ferrovia. Il povero professore Achille Costa, poche ore prima di chiuder gli occhi per sempre, mi faceva una visita per informarsi delle zanzare malariche e mi diceva in tutta buona fede che per lui le zanzare non bastavano a spiegare la malaria, perchè gli constava di sicura scienza che un individuo viaggiando in ferrovia col diretto da Reggio Calabria a Napoli si era buscato la malaria. Questo fatto, sino ad un certo punto sorprendente, m' invogliò ad assumere informazioni, e seppi che il caso citato dal professore Costa, benchè molto raro, non è affatto unico.

Naturalmente ne tenni conto come di un' obiezione seria, sperando una volta o l'altra di trovarne la spiegazione.

Difatti nel mese di gennaio, viaggiando da Metaponto a Potenza, mentre il treno era fermo nella stazione di Bernalda, vidi entrar nel vagone un *Anopheles claviger*, che purtroppo non potei prendere. Naturalmente sospettai di aver mal veduto; se non che pochi giorni dopo, viaggiando di notte nel vagone letto Roma-Milano-Berlino, per caso mi accorsi che in un angolo del mio camerino posavano alcuni *A. claviger* e infatti ne catturai tre.

Dove e quando fossero entrati è difficile dirlo; che fossero entrati però è certo. Un viaggiatore che avesse dormito in questo camerino, se gli Anofeli fossero stati infetti, avrebbe potuto uscirne infetto di malaria!

Nel maggio scorso il mio inserviente catturò parecchi *Anopheles claviger* mentre viaggiava in un vagone di seconda classe da Terracina a Roma. Sul tramonto in maggio e giugno parecchie volte entrarono degli Anofeli nel vagone in cui io viaggiavo, non ostante che il treno fosse già in moto.

Fatti simili ho potuto verificare nei mesi successivi nelle più differenti parti d' Italia.

Se al tramonto il treno si ferma in una stazione malarica anche per pochi minuti, i viaggiatori che si affacciano agli sportelli, vengono spesso assaliti dagli *Anopheles*.

Bastano questi fatti per spiegarci ad esuberanza la malaria presa in ferrovia.

## 8. Risanamento colla coltura intensiva?

Si dice che la coltura intensiva fa scomparire o attenua la malaria.

Mi si domanda se ciò può mettersi in rapporto cogli *Anopheles*. Rispondo colle seguenti osservazioni:

1. La coltura intensiva può riuscire utile o no contro la malaria a seconda dei casi. Nella Lombardia è cosa facilmente dimostrabile che la coltura intensiva

della zona irrigua favorisce lo sviluppo della malaria e quello degli *Anopheles*, che vi diventano talora abbondantissimi.

2. La coltura intensiva non accompagnata da irrigazione riesce invece costantemente utile, diminuendo la malaria: cito per esempio i vigneti, il cui impianto e mantenimento fornisce l'occasione di sopprimere dei piccoli impaludamenti e quindi di ridurre il numero degli Anofeli fino a farli scomparire.

3. La coltura intensiva anche irrigua può favorire la scomparsa della malaria, ove l'acqua che serve per irrigare, venga mossa tanto da ostacolare lo sviluppo degli Anofeli.

Questo è probabilmente il principal motivo per cui gli orti in genere non sono malariferi.

4. La coltura intensiva può richiedere necessariamente una mutazione nel regime delle acque. Ho veduto io stesso la riduzione di un terreno qua e là paludoso e sparso di alberi in una campagna fertile coltivata a grano; questa coltura richiese l'incanalamento delle acque, dirigendole fino al fiume ecc. ecc. Specialmente nei primi anni quando i canali sono ancora in buone condizioni, cioè scarsi di vegetazione e ben arginati, sfavorevoli perciò allo sviluppo degli Anofeli, il vantaggio che se ne risente riguardo all' infezione malarica, è molto notevole.

## 9. Risanamento colle costruzioni?

Si è osservato che molti luoghi, man mano che andarono popolandosi e perciò vennero coperti di edifizi, selciati ecc., risanarono, se non totalmente, almeno in grado notevole.

L'osservazione è esatta e trova la sua ragione principale nel fatto che contemporaneamente vennero regolati i corsi delle acque e soppressi gl'impaludamenti. Così l'ambiente diventò sfavorevole allo sviluppo degli Anofeli e quindi anche a quello della malaria.

## 10. Epidemie malariche tardive.

Si dànno specialmente nella Regione Pontina (a Sermoneta, a Sezze ecc.), epidemie malariche a tardo autunno e al principio dell' inverno (ottobre-novembre), mentre ivi la malaria infierisce poco nei mesi estivi. Si domanda se si possano incolpare fondatamente gli *Anopheles*, anche in queste epidemie? Io ho verificato (1899) che contrariamente a quanto a tutta prima si supporrebbe, gli *Anopheles* infetti abbondano durante le epidemie in discorso. Quanto all'epoca insolita, le ricerche debbono essere approfondite: posso fin d' ora richiamare l' attenzione sulla circostanza che nella regione delle Paludi Pontine si sviluppa in settembre e in ottobre un enorme numore di Anofeli, che si riparano probabilmente nelle case di Sezze e Sermoneta per svernare e, prima dell' ibernazione, producono un'epidemia malarica tardiva. (Vedi pag. 90).

## 11. Casi singolari.

Contro la dottrina degli Anofeli vennero portati molti fatti speciali, che potrebbero definirsi piuttosto curiosità che vere obiezioni. Cito a modo d'esempio uno di quelli già riferiti nel mio Opuscolo popolare (1899):

« Nel mese di gennaio un individuo partì da un luogo sano della Lombardia e a piccole tappe venne fino a Roma. Naturalmente lungo il suo viaggio dormì ripetutamente in luoghi malarici; arrivò a Roma in preda ad una perniciosa di cui morì.

« Mi si disse: In gennaio non vi sono zanzare; che c'entrano dunque le zanzare?

« Un anno fa anch'io avrei fatto plauso a questa obiezione che oggi giudico addirittura vana. È vero che se voi in gennaio domandate notizie agli abitanti dei luoghi malarici, vi rispondono che non ci sono più zanzare; ma se voi entrate nelle loro abitazioni e cercate, trovate sempre un certo numero di *Anopheles*, alcuni carichi di sangue umano succhiato di recente; continuando lungamente le ricerche, ne incontrate anche qualcheduno che presenta le glandole salivali piene di germi malarici. Così vi persuadete che nei luoghi malarici, quando si dice che non ci sono zanzare, si intende dire che ce ne sono poche, ma eventualmente capaci di infettarci ».

## 12. Spontanea attenuazione della malaria.

In molti luoghi la malaria nel nostro secolo è andata diventando sempre meno intensa nonostante che non siano state intraprese opere di bonifica. Giustino Fortunato, che si è molto occupato di questo argomento, mi ha assicurato che non si tratta di una semplice credenza popolare, ma sibbene di un fenomeno indiscutibile, da lui stesso constatato ampiamente. Questo fenomeno lungi dal costituire un'obiezione alla dottrina degli Anofeli la conforta molto autorevolmente, perchè è evidente che la malaria andò diminuendo coll'estendersi dell'uso del chinino, il quale, come oggigiorno sappiamo, non è soltanto utile per guarire un individuo malarico, ma serve anche indirettamente a preservare lo stesso individuo dalle recidive e i sani dall'infezione malarica, come risulterà chiaramente dal Capitolo sulla profilassi.

## 13. Insetti succhiatori funzionanti da veicolo passivo della malaria?

Essendo stato dimostrato che inoculando ad un uomo sano minime quantità di sangue appena tolto da un uomo malarico, gli conferiamo direttamente la malaria, a tutta prima si può supporre che tutti gli animali succhiatori di sangue (sanguisughe, pulci, cimici, zanzare ecc.) passando da un uomo malato ad uno sano, specialmente coll'apparato succhiatore ancora intriso di sangue, possano direttamente trasmettere la malaria, funzionando così da veicolo passivo.

Se questa supposizione avesse fondamento, noi dovremmo verificare casi numerosi di malaria anche in luoghi sani, perchè anche in essi vivono molti animali che si cibano del nostro sangue e frequentemente vi abitano uomini affetti di febbri malariche prese in luoghi malarici.

Inoltre è bene osservare:

I. Che i suddetti animali, dopo che hanno succhiato, non mostrano affatto l'apparato succhiatore intriso di sangue.

II. Che essi non ripetono mai il loro pasto senza un intervallo, almeno di alcune ore, durante le quali il parassita malarico notoriamente muore.

III. Che ancor che abbiano sangue infetto di parassiti malarici nel loro intestino, non lo possono, per la speciale organizzazione di questo, emettere ed inoculare alla loro vittima.

Si aggiunga che le più piccole quantità di sangue malarico dimostrate capaci di infettare un uomo sano sono sempre enormi (poco più di $^1/_{10}$ di cmc. di sangue) rispetto alla quantità di sangue che potrebbe inoculare un insetto succhiatore.

Infine molti dati sperimentali negativi documentano contro l'obiezione in discorso, la quale deve dunque ritenersi del tutto infondata.

* * *

Chiudo l'esame di questa serie di obiezioni esprimendo la mia convinzione che esse sieno tutte infondate. Certamente molti misoneisti continueranno a ripetere per molto tempo l'assurdo scientifico che la malaria si propaga non soltanto cogli Anofeli.

Purtroppo agli occhi di molti sembra che la malaria, questa colossale potenza finora ignorata, la terribile Dea febbre che annuncia il suo apparire col misterioso brivido capace di abbattere in poche ore l'uomo più robusto, venga, a così dire, degradata dalle umili zanzare. Essi ritengono perciò incompetente la causa da noi invocata e hanno bisogno di credere che le zanzare rappresentino un sol episodio della grande tragedia.

Da parte mia invece, quando rifletto che lo studio dei parassiti malarici fuori del corpo dell'uomo dimostra in modo evidente che la malaria non può propagarsi se non per mezzo degli *Anopheles* e che i parassiti malarici dell'uomo sono a lui specifici; quando di fronte a questi fatti, dirò così, teorici ne pongo altri pratici, che cioè, non ho trovato in diciotto mesi di ricerche un sol caso di malaria nel quale si potessero escludere le punture degli Anofeli; quando contemplo questa larghissima base di fatti, debbo confessare che coloro, i quali oltre agli Anofeli invocano *altre cause ignote* d'infezione malarica, mi sembrano fuorviati da preconcetti teorici, come quei fisiologi che di fronte alle scoperte moderne tornano ad invocare l'archeo.

---

CAPITOLO IX.

# Profilassi della malaria.

Le premesse fatte nei precedenti capitoli permettono di imprendere una profilassi scientifica della malaria, combattendo questo terribile morbo con nuove armi.

Non è mio scopo di penetrare molto addentro in questo argomento, che troppo mi allontanerebbe dal mio campo di studî; non voglio però neanche trascurarlo, perchè credo che il zoologo possa più facilmente del medico guidar la profilassi almeno fino a che si saranno tracciate con sicurezza le norme fondamentali.

## 1. Cura obbligatoria della malaria sopratutto nell'epoca precedente l'epidemia.

Dagli studî fatti risulta che gli Anofeli sono infetti sopratutto nei mesi più caldi dell'anno: giugno, luglio, agosto e settembre; da questi mesi di grave infezione si passa ad altri (ottobre, novembre e dicembre), in cui l'infezione in generale va gradatamente diminuendo fino a scomparire in gennaio ([a]).

In complesso dal gennaio al giugno (non compreso) è difficile trovare un Anofele infetto, a meno che non si verifichino condizioni eccezionali. (Nell'Italia settentrionale la durata del tempo in cui gli Anofeli non sono infetti è molto maggiore).

Su questo fatto io prima d'ogni altro ho richiamato l'attenzione. Dopo di me venne pubblicato anche da Koch, con piccole differenze rispetto al tempo dell'infezione, a torto ridotto da Koch a tre o quattro mesi. Il fatto è di fondamentale interesse, perchè da esso risulta che per un bel numero di mesi precedenti la nuova stagione malarica i germi dell'infezione si trovano soltanto nell'uomo, il quale perciò venne da me definito *depositario dei germi malarici per la nuova stagione.*

La nuova dottrina dunque si riassume così:

La malaria non esiste nel senso stretto della parola. *Esistono soltanto germi malarici nell'Uomo e negli Anofeli; nell'Uomo per tutto l'anno, negli Anofeli quasi soltanto nella seconda metà dell'anno.*

L'infezione degli Anofeli presenta dunque un'interruzione periodica di circa cinque mesi; sorge pertanto spontanea la questione se sia possibile o no di perpetuare tale periodo d'interruzione.

([a]) L'andamento della stagione influisce molto; così a Maccarese nell'inverno molto mite del 1898-99 trovammo in dicembre molti Anofeli infetti (in grandissima parte soltanto nello stomaco) e nel gennaio rarissimi Anofeli infetti (nelle ghiandole salivari), mentre nell'inverno scorso, relativamente meno mite, trovai in dicembre pochissimi Anofeli infetti (soltanto nello stomaco) e in gennaio nessuno. Quanto a certi corpi di natura dubbia vedi pag. 196.

La possibilità è ammissibile: occorre profittare dell'interruzione per distruggere i germi malarici nell' uomo.

Possiamo accingerci fiduciosamente a questa distruzione, perchè contro la malaria possediamo un rimedio sicuro, mezzi diagnostici infallibili, e d'altra parte la malaria non è malattia che si voglia tener segreta.

Abbiamo davanti a noi molti mesi nei quali possiamo applicare il rimedio sicuro, cioè l'uso del chinino; per mezzo del microscopio possiamo determinare se i germi malarici sono, o no, presenti nel sangue; infine i malarici hanno tutto l'interesse di farsi curare. La cura dei malarici è dunque *la via maestra che ci deve guidare nella profilassi.*

M'affretto a soggiungere che a tutta prima questa cura profilattica pare più facile di quel che non sia. In realtà esiste un gran scoglio, contro il quale necessariamente urtiamo. Gli Anofeli s' infettano, come si è dimostrato, coi gameti che trovano nel sangue dell' uomo. Ora sta il fatto che i gameti si trovano anche in individui che non hanno più febbre. Anzi il dottor Dionisi ha dimostrato che nonostante la presenza dei gameti l' individuo malarico si ricostituisce, assumendo le apparenze dell' uomo non infetto.

A questo fatto vuolsi aggiungere un altro dimostrato per la prima volta da Gualdi e Martirano e da me stato confermato, che cioè, i gameti si sviluppano nel corpo degli *Anopheles* ad onta che l' individuo malarico sia tenuto chinizzato.

Fortunatamente i gameti della terzana raramente, e forse mai, durano nel sangue al di là di 10 giorni dopo la cessazione della febbre; da parte mia spesse volte li ho veduti scomparire col cessare delle febbri.

I gameti semilunari persistono molto più a lungo nel sangue, ma tutt' al più 10 o 12 giorni dopo l' ultima febbre, perdono la capacità di svilupparsi negli *Anopheles.* Questo fatto si è ripetuto sotto i miei occhi alcune volte: se sia costante resta da dimostrare. Notevole è però che i malarici recidivarono nonostante che le loro semilune non si sviluppassero più negli Anofeli.

Fermiamoci un istante sulle recidive: se noi cerchiamo notizie sulle recidive subito ci accorgiamo che questo è uno degli argomenti meno studiati.

Il clinico non ha ancora stabilito dopo quanto tempo un individuo, che ebbe le febbri, possa, pur vivendo in luogo sano, andar soggetto a nuovi attacchi *indiscutibili* di malaria. Si riferiscono casi di recidive dopo anni, ma a questi per lo più non si presta fede; recidive dentro l'anno si dànno con sicurezza.

A Grosseto, Koch ha fatto prevalere l'opinione che la febbre sorta dopo un intervallo di 4 o 5 mesi debbasi ritenere primitiva, cioè attribuire a nuova infezione. Questo concetto non è per altro conforme alle conclusioni che si inducono dai fatti osservati nell' insorgere delle nuove epidemie (pag. 163). D' altronde se la recidiva può accadere dopo cinque mesi, nulla si oppone a che possa accadere dopo un anno; ed è questo precisamente che mi risulta verosimile.

Voglio aggiungere che, se è vero che si dànno recidive negli individui che vanno da un luogo malarico a un luogo sano, è vero pure che per lo meno altrettante se ne dànno negli individui che vanno da un luogo sano a un luogo malarico. L'anno scorso infatti ebbi a notare nel mio inserviente due gravissime recidive

in rapporto immediato con una gita di una giornata a Cisterna o dintorni, d'onde ritornò a Roma in preda alla febbre. Ammaestrato da questi fatti m'informai di molti altri casi consimili e mi persuasi che il fenomeno dev'essere tutt'altro che raro ([a]).

Da quanto ho fin qui detto, si deduce che per attenerci ad una profilassi sicura dovremmo escludere dai luoghi malarici per lo meno gl' individui che negli ultimi 12 mesi hanno avuto accessi di febbre malarica ([b]). *Ciò non essendo possibile, si cureranno con ogni scrupolo tutte le recidive dal gennaio alla metà di luglio.*

Un'altra proposta, che io faccio, consiste nella distribuzione gratuita del chinino. Dopo le recenti scoperte sulla malaria, lo Stato verrebbe meno al suo obbligo di tutelar la salute pubblica, se nel modo stesso come procura la disinfezione nei casi di colera a proprie spese, non provvedesse gratuitamente il chinino ai malarici, tenendo presente che molti malarici in Italia non si curano per non andare incontro alla spesa del chinino. Contemporaneamente alla distribuzione gratuita del chinino lo Stato impedirà il commercio di qualunque succedaneo al chinino.

Vero è che i succedanei possono avere un' influenza temporanea sulla febbre, ma ad ogni modo, come hanno dimostrato Gualdi e Martirano, facilitano molto la produzione dei gameti, ciò che è evidente sopratutto per quelli semilunari.

Il malarico sarà obbligato a sottoporsi a cura e successiva osservazione; il medico sarà obbligato alla denuncia di ogni caso di malaria; schiere di medici speciali dovranno perciò venire adibiti a questo servizio. I casi che si verificassero, ad onta di tutte queste cautele, nei luoghi malarici dovrebbero essere trattati come casi di colera o di peste, curati in ambienti opportuni, oppure trasportati in luogo non malarico.

Questo, che ho esposto, è il precipuo corollario dei nostri studî sulla malaria.

## 2. Reti metalliche.

Fin dal principio delle mie ricerche mi accorsi che le reti metalliche alle finestre e alle porte possono dare un risultato veramente soddisfacente e da sole devono bastare a diminuire notevolmente la malaria. Chiunque abbia sperimentato le reti metalliche, si sarà meravigliato che prima d' ora non se ne sia fatto in Italia largo uso; perocchè esse allontanano dalle case non soltanto le zanzare, ma anche le mosche e sono una vera provvidenza per chiunque vive in campagna. Questi vantaggi sono ben noti a quei pochissimi che si servono delle reti metalliche già da un certo numero di anni, come p. es. a Chiarone nel caseggiato della tenuta Pescia Romana, affittata al sig. Franceschetti. Da parte mia ne feci molto uso a Maccarese confermandone i vantaggi.

Occorrono cautele; le principali sono le seguenti:

1. I quadretti della rete non devono avere lati maggiori di 2 mm. circa ([a']), escluso il filo.

([a-a']) L'argomento è molto interessante e merita uno studio più accurato.

([b]) Si consideri, per es., che un' isola risanerebbe del tutto se potesse rimanere spopolata per qualche mese, nè in seguito vi si ammettessero individui malarici.

2. La tela metallica deve essere messa doppia sopratutto nelle case dove sianvi ragazzi i quali facilmente si divertono ad allontanarne i fili.

3. Le porte a rete metallica dovranno chiudersi automaticamente con molle applicate in modo opportuno. Queste porte però s' applicheranno lasciando in sito quelle esistenti. Si adatteranno reti metalliche anche ai camini.

Nelle camere da letto in corrispondenza alla porta si appenderanno delle tende semplici.

Gli abitanti dei luoghi malarici nella stagione pericolosa dovranno dormire, e anche semplicemente riposarsi, soltanto in luoghi riparati dalle reti metalliche. Si ritireranno in essi nelle ore in cui gli Anofeli di solito pungono di più (tramonto e alba).

Le finestre potranno stare aperte fin che si vuole senza pericolo, perchè la rete metallica intercetta l'entrata degli Anofeli.

Occorrerà giornalmente far la caccia a quegli Anofeli che per qualche inavvertenza fossero riusciti ad entrare, cercandoli anche sotto al letto, sotto ai tavoli, tra le tende, nei sottoscala, ecc. Nè la caccia riesce difficile perchè sono di dimensioni relativamente ragguardevoli; e tanto meno difficile, se si accendono i soliti zampironi, foglie fresche di eucalipto, polvere di piretro ([a]), o anche semplicemente un po' di zolfo. Il fumo spinge gli Anofeli verso le finestre, dove si possono facilmente uccidere. Specialmente prima di entrare nelle camere da letto è raccomandabile di accendere qualche foglia fresca di eucalipto sopra una candela, o anche in mancanza d'altro, qualche po' di paglia umida. Infatti basta la piccola quantità di fumo in tal modo prodotta perchè si possa entrar in una camera senza pericolo che vi si introducano gli Anofeli.

Si terrà infine presente che di ogni fessura si giova l'Anofele per entrare nelle case.

## 3. Distruzione degli Anofeli.

Gli *Anopheles claviger*, e si ricordi che essi indiscutibilmente producono la maggior parte della malaria in Italia, svernano dentro le nostre case, nell'Italia settentrionale, e qualcuno, oltre che nelle case, dentro le grotte, nell'Italia media e meridionale.

Bisogna adunque distruggerli andandoli a cercare in tutti gli angoli remoti a loro prediletti (nei soffitti, nelle cantine, nelle stalle, nei pollai, tra le fenditure, sulle ragnatele, ecc.). Ogni femmina svernante uccisa equivale a migliaia uccise nei mesi malarici. Bisogna però non illudersi nè credere di poter così distruggere la specie: come ho detto altrove, nell'inverno 1888-99, per parecchi mesi non riuscii a trovare un solo individuo di *Culex penicillaris*, di *C. vexans* e di *Anopheles bifurcatus*, nonostante le più minute ricerche. Certamente il numero degli individui di queste tre specie doveva essere diventato enormemente esiguo.

In maggio invece in certi luoghi tutte e tre erano già abbastanza numerose. Al principio di luglio i due *Culex* suddetti si potevano dire abbondanti e nella seconda

([a]) Sarebbe opportuno render comune la coltura del piretro nei luoghi malarici. Occorre rivolgersi ai coltivatori di Dalmazia e del Montenegro per avere il seme di buona qualità e le istruzioni opportune.

metà di luglio a Maccarese svolazzavano già in orde sterminate tanto che, per esempio, in un quarto d'ora un ragazzo ricevette 85 punture.

Gli *A. bifurcatus* si mantennero però entro limiti di gran lunga più ristretti: ciò è in rapporto colle circostanze che essi trovano più difficilmente dei *Culex* l'ambiente opportuno per deporvi le nova e che si sviluppano più lentamente dei *Culex* stessi.

Dai fatti esposti si deduce che anche pochi *Anopheles* sopravissuti nell'inverno basteranno per infestare i luoghi malarici nell'estate e nell'autunno ([a]). È certo però che da questa distruzione deve risultare un vantaggio, se non nel luogo stesso in cui è avvenuta, almeno nei dintorni. In proposito si richiami che, di solito, maggiore è il numero degli *Anopheles* prodotto da un focolaio palustre, maggiore viene ad essere il raggio del territorio circostante che essi invadono per potersi procurare l'alimento. Diminuendo perciò il numero degli *Anopheles*, localmente l'influenza potrà non esser grande, ma si farà sentire nei dintorni, dove potranno anche in casi speciali scomparire gli *Anopheles* e quindi anche la malaria.

Ho voluto accennare a queste considerazioni, perchè se dovessi giudicare dalla sola esperienza fatta, dovrei arguire che la distruzione delle femmine ibernanti di *Anopheles claviger* non ha alcun effetto: tant'è vero che l'inverno 1898-99 a Maccarese noi ne abbiamo fatto una continuata ed estesa distruzione, quale certamente riuscirà difficile di ripetere, senza ottenere nell'estate e nell'autunno una sensibile diminuzione del numero degli stessi *Anopheles claviger*.

Celli e Casagrandi si sono molto occupati di distruggere gli Anofeli nelle case con sostanze chimiche: io mi auguro che i loro sforzi siano coronati da un successo pratico ([b]).

Si dovrà certamente tentare di distruggere le larve nell'acqua, ed anche per questa distruzione Celli e Casagrandi dopo molti esperimenti fecero proposte degnissime di considerazione ([c]).

A questo proposito devo dichiarare d'essere a poco a poco venuto nella persuasione che alla distruzione delle larve sia riservato un avvenire più grande di quanto io non ritenessi in principio; infatti ho notato che in molti luoghi malarici il numero degli *Anopheles* è così limitato che anche i focolari donde provengono, devono

([a]) *Nota aggiunta durante la revisione delle stampe.*

Nell'inverno scorso, come ho detto (pag. 47), mi sono persuaso che l'*Anopheles bifurcatus* può ibernare almeno nell'Italia media e meridionale allo stato di larva, ciò che può fors'anche avvenire per varî *Culex*.

([b]) Celli in una rivista uscita recentemente scrive: « Per la distruzione delle larve e quindi per la disinfezione delle acque che le allevano, tenuto conto della dose necessaria, della praticità e del prezzo, restano in campo le polveri vegetali (fiori chiusi di crisantemi di Dalmazia), alcuni colori di Anilina (Larvicid della casa Weiler-Ter-Mer di Uerdigen) e il petrolio ».

([c]) Celli aggiunge nella rivista sopra nominata: « La distruzione delle zanzare alate dentro le case, nei mesi di malaria può essere evidentemente anche un'ottima misura profilattica.

« Per questo scopo di tutti gli odori e di tutti i fumi provati e riprovati in laboratorio od in grande, corrisponde meglio una polvere da bruciare, composta essenzialmente di fiori chiusi di crisantemi, di radice di valeriana e del suddetto Larvicid ». Questa polvere è messa in commercio presso la società chimico-farmaceutica italiana di Roma col nome di *zanzolina*.

essere senza dubbio facilmente aggredibili. In ogni modo non è già il compito gravissimo di distruggere la specie quello che noi ci proponiamo; basterà diminuire il numero degli *Anopheles*, per ottenere un notevole vantaggio.

Vi sono poi delle località che si prestano in modo singolare alla distruzione; così p. es. i piccoli stagni di cui abbonda la Sardegna, dove sembra appunto che Fermi abbia ottenuto risultati brillantissimi ([a]).

Conosco anche sul continente italiano, in vicinanza delle ferrovie, parecchi stagni, l'acqua dei quali non servendo per alcun uso speciale può essere messa senza alcun inconveniente in condizione da non dar luogo allo sviluppo degli *Anopheles*.

## 4. Profilassi individuale (privata).

Io sono persuaso che si otterranno incalcolabili vantaggi diffondendo nel popolo la conoscenza delle nuove scoperte intorno alla origine della malaria: così che tutti sappiano distinguere gli *Anopheles* e sappiano guardarsi dalle loro punture.

Molti individui vengono punti perchè non si curano di allontanare gli Anofeli che li assalgono, o perchè si espongono ad essi riposando per qualche tempo in luoghi ombrosi, nelle stazioni ferroviarie, ecc.

Chi si trova obbligato a dormire in un luogo malarico non protetto da tele metalliche, deve bruciare nella stanza da letto polvere di piretro, razzìa, zampironi, zanzolina, ecc.

Chi è costretto a dormire all'aperto deve provvedersi di una sorta di zanzariera che si può attaccare a due alberi, a due pali, ecc.

La pratica certamente insegnerà molti altri mezzi di difesa; così, per esempio, i ventilatori elettrici, che in alcuni luoghi sono usati con profitto per allontanare le mosche, potranno forse servire con vantaggio anche contro le zanzare.

Io so per esperienza che una famiglia può, senza trascurar le proprie faccende, guardarsi efficacemente dagli Anofeli. I bambini in modo speciale possono facilmente venir preservati.

Certamente se una sola puntura bastasse sempre per infettarci di malaria, il pericolo sarebbe così grande da poter essere difficilmente evitato. Al contrario esso è di solito, relativamente assai minore, perchè è difficile, in generale, che in un centinaio di Anofeli esaminati nell'epoca in cui la malaria è più grave, se ne trovino più di due colle ghiandole salivali infette e quindi capaci di infettarci; e quindi molte punture possono riuscire innocue. Ciò spiega come certi individui prontamente s'infettino, ed altri per anni e anni riescano a sfuggire alla malaria; uno può avere la disgrazia alla prima puntura di avere inoculati i germi malarici, come può aver la fortuna di essere punto soltanto da Anofeli con le ghiandole salivali non infette e di sfuggire quindi all' infezione.

([a]) Risulta, da quanto ho detto, che io sono ben lontano dal seguire Gosio il quale giunge ad asserire che « non è sulla zanzara che dirigiamo la nostra lotta, anzi è a suo beneficio: infatti intendiamo preservarla dalla malaria. » (!)

Una grande difficoltà incontrarono l'anno scorso alcuni, che cercarono di guardarsi dalle punture degli *Anopheles*: e ciò derivò dalla circostanza che in certi luoghi malarici pullulano anche i *C. pipiens*, per es., nelle stazioni ferroviarie. Ho dovuto perciò persuadermi che non si otterrà che gli individui si guardino dagli *Anopheles*, se non faremo prima scomparire i *Culex pipiens* i quali costituiscono spesse volte, là dove sono presenti, la gran maggioranza delle zanzare che ci pungono. La cosa è troppo naturale: guardarsi in un giorno da una dozzina di *Anopheles* è facile: ma se questi siano commisti con un centinaio di *Culex* (non facilmente distinguibili in lontananza), la bisogna riesce difficilissima, quasi impossibile. Fortunatamente, come ho detto altrove, i focolai di *Culex pipiens* in non poche località sono fino ad un certo punto limitati (per es. latrine, vasche, ecc.) e quindi l'opera di distruzione può essere intrapresa efficacemente anche da un privato ([a]).

Uno dei principali vantaggi che dobbiamo aspettare dalla scoperta degli Anofeli malariferi è senza dubbio la possibilità di affrontare impunemente l'ambiente malarico per coltivarlo intensivamente Prima della scoperta degli Anofeli, una famiglia che avesse ardito stabilirsi in un luogo malarico andava incontro a certi e gravi malanni. Oggigiorno, adottando le norme indicate, essa può affrontare il pericolo quasi sicura di riuscirne vittoriosa.

Quando si pensi che il più grande ostacolo alla cultura intensiva è la malaria, la quale così viene a impedire il progresso di gran parte d'Italia, tarpando le ali a qualunque iniziativa, sorge nell'animo la profonda convinzione che, essendosi trovato modo di domare il morbo, saranno concesse anche all'Italia ora malarica le gioie della fertilità.

Certamente ai proprietarî incombono nuovi oneri, ma essi verranno compensati dalla agricoltura intensiva sostituita a quella estensiva presentemente in uso. A loro spetta di provvedere i contadini di abitazioni convenienti, perchè deve cessare l'attuale uso di dormir nelle capanne improvvisate all'epoca della mietitura e della trebbiatura del grano, deve cessare l'uso di dormire nei pagliari, ecc.

## 5. Bonifiche.

I. Ho finora parlato di alcuni nuovi metodi per combattere la malaria. Qui molti non mancheranno di domandarmi se, ammesso che essi conducano ad un risultato positivo, le bonifiche siano ancora necessarie, o perdano invece qualche cosa del loro valore come metodo classico per liberarci dalla malaria.

Orbene non v'è dubbio alcuno intorno all'importanza delle bonifiche; ma il modo di condurle a termine e successivamente di mantenerle deve essere modificato, concordemente al nuovo aspetto che ha assunto la quistione dopo le recenti scoperte. Fin qui si bonificava soltanto empiricamente perchè non si conosceva donde provenisse il nemico da vincere; mentre oggi, invece, si può bonificare scientificamente, perchè

([a]) Quest'efficacia è stata dimostrata recentemente da Fermi colle sue belle esperienze fatte a Sassari.

il nemico è stato identificato, e fortunatamente identificato in un animale macroscopico qual è l'Anofele.

Prima dell'attuale periodo di studio, tutto conduceva a ritenere con Tommasi Crudeli che fomite della malaria fosse il suolo. Perciò la bonifica si riteneva difficilissima, anzi spesso impossibile, tanto che Giustino Fortunato, nel discorso del 6 dicembre 1890 ai suoi elettori, diceva: « Siamo in regioni tra le meno propizie, per difficili condizioni telluriche e climatologiche; nè oggi, dopo le ultimi indagini della scienza, può sorridere più a noi financo il sogno che ci ha sedotti fino a ieri: il gran sogno di redimere tanta parte del territorio dal fato della malaria ». Ai nostri giorni, invece, è noto che è fomite di malaria soltanto l'acqua scoperta, ricca di vegetazione palustre, ferma o lentamente muoventesi. Questa cognizione semplifica il problema della bonifica, riducendolo a togliere l'acqua superficiale, ovvero a impedire che essa si arricchisca di vegetazione palustre, ovvero a metterla in movimento più celere. Questa stessa coguizione spiega facilmente perchè bonifiche che costarono molti milioni, non raggiunsero lo scopo per cui erano state compiute. Infatti, il regime dei canali che si costruirono non era tale da impedire lo sviluppo degli Anofeli, non essendo l'acqua sufficientemente mossa. Aggiungasi che spesse volte si trascuravano i paludelli e i piccoli impaludamenti che in realtà sono straordinariamente propizi alla moltiplicazione degli Anofeli.

Pagliani, in un recentissimo articolo, ha precisato le nuove massime a cui devono uniformarsi le bonifiche, con le seguenti parole:

« Intenti precipui che si devono proporre le bonifiche dei terreni malarici secondo il concetto attuale della malaria, saranno dunque in singoli diversi casi: di rinnovare gl' impedimenti al movimento delle raccolte di acque stagnanti di qualsiasi importanza; di attivare con ogni migliore mezzo tale movimento, quando si verifichi, ma troppo lento; di sistemare le sponde dei bacini marini, lacustri, fluviali o palustri, che si prestino alla formazione di sottili strati di acqua, sia temporanei che permanenti, senza sufficiente ricambio; di prosciugare i depositi di acqua stagnante che non si possono correggere in uno dei modi sopra indicati; di abbassare le falde acquee sotterranee, dove arrivino troppo vicine al suolo ».

II. Mi preme di far risaltare che la scoperta degli Anofeli malariferi promette di risolvere definitivamente a beneficio dell' agricoltura l' eterno dissidio tra la bonifica agraria e la bonifica igienica.

Tutti sanno quale fattore di fondamentale importanza per l' agricoltura sia l' irrigazione. L' irrigazione per contrario riesce un terribile fomite di infezione malarica e quindi un molto grave nemico della salute umana e viene combattuta e limitata dall' igiene. Perciò rispetto ai molti terreni, incolti o a coltura estensiva, in Italia altre sono le necessità della bonifica agraria, altre quelle della bonifica igienica. La prima viene inceppata gravissimamente dalla seconda. Così è, ad esempio, che la proficua coltura a praterie irrigue trova ostacolo nella circostanza che invece di diminuire la malaria, spesso la favorisce. La risicoltura, che è tanto rimunerativa, è proibita p. es. nella Campagna Romana. In molti latifondi la malaria proviene da pochi impaludamenti, che non possono venir tolti senza privare di erba fresca il bestiame nei mesi più caldi. In tutti questi casi e in altri che per brevità tralascio, la nuova

dottrina fa sperare con serio fondamento di poter mettere in accordo l'igiene con l'agricoltura.

Due sono le vie, sulle quali si può tentare questo accordo: quanto siano lunghe non si può ancora prevedere; per ora è lecito soltanto asserire che non sono senza uscita.

L'una consiste nell'*abbandonare la bonifica igienica, limitandoci alla bonifica dell'uomo* (uso la frase felice colla quale Gosio ha riassunto quel mio concetto riguardante la cura degli uomini malarici, del quale ho fatto cenno al principio del presente Capitolo). Siccome soltanto dopo la nuova stagione malarica conosceremo con verosimiglianza le difficoltà che presenta la bonifica dell'uomo, così per ora sarebbe inutile di ulteriormente discutere fino a che punto sia consigliabile la via in discorso. Non posso però tacere come a me sorrida la speranza che *sorgerà un giorno nel quale l'uomo malarico in Italia sarà diventato un caso raro e non occorrerà più impedire lo sviluppo degli Anofeli.*

III. Nei primi tempi io credetti che si potesse ottenere grande vantaggio dalla *irrigazione intermittente.* Purtroppo però le ricerche di Celli e Casagrandi vennero prontamente a disilludermi, avendo essi dimostrato che le larve e sopratutto le ninfe degli Anofeli trovano assicurata la vita anche nel paludismo intermittente, perchè sopravvivono parecchi giorni nel terreno più o meno umido. In conformità a queste osservazioni Celli verificò che gli Anofeli si sviluppano anche in quelle risaie, la cui sommersione dura appena due o tre giorni della settimana, mentre negli altri giorni vengono tenute all'asciutto.

Mi restava però ancora una speranza, che potesse giovare, cioè, l'*irrigazione intermittente, ma a brevissimi intervalli*, purchè, s'intende, non desse luogo a pozzanghere. Io mi basavo su un lavoro del Bonizzardi pubblicato nel 1889 (4).

Egli sostiene che nei poderi di S. Maria a Pralboino la coltivazione del riso è diventata meno funesta perchè un più razionale mezzo di coltivazione fa sì che dall'epoca della mondatura fino a quella della falciatura la sommersione del riso corra in modo affatto intermittente, alternando quotidianamente la sommersione notturna coll'asciugamento diurno.

Per spiegarmi l'osservazione empirica di Bonizzardi io supponeva che le uova di Anofele non potessero svilupparsi per effetto appunto dei prosciugamenti quotidiani; io ritenevo, cioè, che le uova degli Anofeli fossero molto meno resistenti delle larve e delle ninfe. Pare che anche Celli e Casagrandi siano stati dello stesso avviso, e perciò non ne abbiano saggiata la resistenza ai varî agenti naturali. Mi fece perciò meraviglia di leggere nel *Report* (46) di Ross e colleghi queste parole: « Uno di noi fece un'osservazione tendente a dimostrare che le uova di Anofele resistono per parecchi mesi al disseccamento; ma ciò richiede conferma. ». Rileggendo più tardi le riviste di Nuttall (32) appresi che l'osservazione, di cui qui si parla, era stata fatta da Ross. Si trattava di uova di Anofeli che erano state messe in una provetta alla metà di febbraio. Esse vennero tenute completamente asciutte fino alla metà di luglio, poi messe in acqua dalla quale nacquero larve, le quali più tardi morirono tutte. La circostanza però che la spedizione Ross dell'estate scorsa non ha portato alcun nuovo fatto in appoggio della suddetta osservazione di tanta importanza, sembrava deporre

contro di essa e fu soltanto un eccesso di scrupolo che mi mosse a tentar qualche prova insieme con Noè. Con nostra meraviglia verificammo che le uova di *A. claviger* possono resistere notevolmente al disseccamento. Finora abbiamo dimostrato soltanto che vanno avanti a svilupparsi producendo larve vitali, perfino dopo essere state 12 giorni (dal 4 al 16 aprile) a temperatura ordinaria dell'ambiente, in una provetta di vetro asciutta alla quale erano restate appiccicate. Presto potremo fare prove di maggior durata; intanto quelle fatte finora sono già sufficienti per dimostrare che le uova possono restare a lungo vive nel terreno asciutto. Anzi forse allo stadio di uovo la specie degli Anofeli sopravvive nei paesi tropicali durante la stagione asciutta ([a]).

Questi fatti mi fecero perdere ogni fiducia nell'irrigazione anche a brevissimi intervalli e perciò anch'io, insieme ad altri, giudicai soverchiamente ottimiste le tendenze di Bonizzardi. *Ben poca speranza, perciò, si può riporre nella irrigazione intermittente.*

IV. Invece si otterranno forse buoni risultati con un piccolo ma costante movimento degli strati superficiali dell'acqua, rendendola così disadatta alla vita degli Anofeli.

Questa mia opinione è basata sulla circostanza che non ho mai trovato larve di Anofeli nei bacini in cui cadono zampilli d'acqua, anche se tali bacini erano situati in luoghi dove gli Anofeli abbondavano. Forse è questa la ragione per cui le fontane che adornano i giardini, non favoriscono lo sviluppo della malaria.

La pratica solo può dimostrare fino a che punto sia attuabile il lieve, ma continuo movimento dell'acqua, che io suggerisco.

Rammento qui occasionalmente che il dottor Peglion ha richiamato la mia attenzione sul vantaggio che verrebbe all'agricoltura se si potesse impedire la moltiplicazione delle piante palustri nei corsi d'acqua, facendoli percorrere di tanto in tanto da speciali macchine. In questo modo l'irrigazione verrebbe ad essere molto meno costosa. Io sono d'avviso che ciò porterebbe anche un non lieve vantaggio all'igiene, ostacolando lo sviluppo degli Anofeli.

* * *

Brevemente si può dire che la redenzione dell'Italia malarica dopo le nuove scoperte è diventata possibile in una breve scadenza; perchè all'antico metodo della bonifica, non sempre corrispondente allo scopo senza enormi sacrifici pecuniarî, si sono aggiunti mezzi validissimi e molto meno costosi.

D'altra parte se lo Stato, come il dovere gl'impone, obbligherà i malarici a farsi curare sopratutto nell'epoca in cui gli Anofeli non sono infetti, potrà facilmente ovviare anche agl'inconvenienti di una bonifica imperfetta.

La bonifica per iniziativa dello Stato sarà sempre necessaria laddove i focolai di Anofeli sono estesi; invece nei luoghi dove essi sono limitati, anche i privati, at-

([a]) Fatti simili sono già noti per i crostacei inferiori di acqua dolce (*Phyllopoda*), le cui uova possono resistere non solo al disseccamento, ma anche al congelamento, come probabilmente avverrà anche per quelle di Anofele.

tenendosi alle norme sopra esposte, potranno efficacemente sostituire l'opera del Governo.

Non so se io e gli altri fautori della dottrina degli Anofeli arriveremo a persuadere il Governo dei nuovi obblighi che gli incombono a benefizio dell'Italia malarica. Ammesso, com'è da augurarsi, che questa persuasione si faccia strada e che lo Stato si induca ad assegnare una decina di milioni all'anno per combattere la malaria colle nuove armi, noi abbiamo ragione di ritenere con fondamento che tra dieci anni le condizioni di una gran parte d'Italia saranno immensamente migliorate, perchè la malaria sarà ridotta ai minimi termini, ciò che permetterà all'agricoltura di usufruire ampiamente dell'irrigazione, diventando così di gran lunga più rimunerativa.

Tanto suolo oggi giorno incolto, o mal coltivato sarà reso fertilissimo senza quella ecatombe di lavoratori che rende tristamente famose parecchie colonie agricole (Celli). Se questi miei voti saranno presto esauditi, il mio lavoro avrà avuto il compenso maggiore che io mi potessi desiderare. In ogni modo la verità non potrà a meno di imporsi in un tempo più o meno lontano.

Intanto occorre fin d'ora prepararci a fare per lo meno un esperimento su vasta scala; quello che io propongo consiste nel mettere in opera tutti i nuovi dettami della scienza in una località malarica relativamente estesa, ma confinante almeno in parte notevole con una zona sana.

La regione più adatta mi sembra il territorio tra Sibari e Metaponto, che ha la figura di un rettangolo i cui lati più lunghi, formati dagli Appennini e dal mare, sono luoghi sani, mentre i più corti sono malarici. Quest'ultima circostanza rende l'esperimento alquanto difficile, ma la difficoltà non è insormontabile.

Per questo esperimento occorre:

1°. Curare, specialmente dal gennaio al luglio, tutti gli individui del territorio in discorso, affetti da malaria, prevenendo possibilmente le recidive con una settimanale amministrazione di chinino.

2°. Distruggere gli *Anopheles* ibernanti nelle abitazioni.

3°. Applicare le reti metalliche alle case.

4°. Distruggere e fin dove è possibile impedire lo sviluppo delle larve degli *Anopheles*.

5°. Distruggere le larve dei *Culex pipiens* in vicinanza alle abitazioni.

6°. Istruire la popolazione e sopratutto gli agenti ferroviarî sulle precauzioni da prendersi.

L'esperimento dovrebbe venir fatto sotto la tutela e il controllo del Governo. Almeno sei medici dovrebbero dedicarsi interamente alla cura dei malarici.

[Questa proposta da me fatta nel dicembre scorso non trovò appoggi e sono stato perciò costretto a contentarmi di una prova entro limiti molto più ristretti, limitata, cioè, alla protezione di meno di un centinaio di ferrovieri abitanti in 10 caselli tra Battipaglia e Ogliastro; posti, perciò, in località ritenute tra le peggiori d'Italia per l'infezione malarica. Questa prova venne affidata alle cure dei dottori Martirano e Blessich sotto la mia direzione. Incompleta com'è, rispetto al primo esperimento da

me proposto, potrà dar risultato favorevole, ma potrà anche non darlo, perchè i ferrovieri, che vogliamo proteggere, abitano in mezzo ad un gravissimo ed ampio focolaio malarico e d'altra parte noi, in realtà, ignoriamo le difficoltà che incontreremo nel tradurre in pratica i nuovi dettami della scienza. In ogni caso questa prova è destinata a formare un ponte tra la nuova teorica e la pratica applicazione di essa; sarà perciò feconda di ammaestramenti pratici, che per certo in un tempo prossimo compenseranno largamente la piccola spesa alla Società Ferroviaria Mediterranea].

---

## CONCLUSIONE.

Dopo aver trattato separatamente nei singoli Capitoli distinte quistioni relative all'andamento del fenomeno malarico, mi sembra ora conveniente gettare uno sguardo complessivo su tutta l'opera e raccogliere e collegare con una rapida esposizione quei fatti che, esposti isolati, forse a tutta prima potrebbero apparire quali membra sparse, piuttosto che parti di un tutto organico. Indicherò dunque al lettore il concetto che mi ha guidato nel lavoro.

Prima d'ogni altra cosa, com'era dovere, ho voluto riferire con tutta esattezza la storia relativa alla nuova scoperta per separare nettamente quanto deve attribuirsi a me ed ai miei collaboratori, da quanto era stato già fatto e si è andato di mano in mano compiendo in proposito.

Ho fatto spiccare quale vantaggio io abbia tratto dalla teoria dei *mosquitos* come agenti propagatori della malaria, teoria che, espressa già da lungo tempo, quando cominciai i miei studî era stata rimessa sul tappeto per esser fondata su dati sperimentali.

Ma invece di cominciare le ricerche senza una strada determinata e alla ventura, ho compiuto un lungo lavoro d'induzione diretto dall'idea fondamentale che la nuova teoria, per essere giusta, doveva spiegare tutti quei fatti relativi all'andamento del fenomeno malarico, che già da secoli una dolorosa esperienza aveva reso noti, e sopratutto doveva rendere ragione di una delle proprietà caratteristiche dell'infezione malarica, vale a dire della sua limitazione in località nettamente definibili ed evidentemente non corrispondenti alla distribuzione geografica dei *mosquitos*.

Ragionando su questi dati empirici, ho concluso che se la malaria era veramente inoculata all'uomo da qualche animale, non tutti gli animali succhiatori dovevano ritenersi ugualmente sospetti, ma la nostra attenzione doveva rivolgersi più particolarmente alle specie fino ad un certo punto esclusive di quei luoghi che sono tristemente famosi come focolai del morbo.

Ho cercato perciò di determinare quali fossero queste specie e sono giunto a limitare i miei sospetti sopratutto agli *Anopheles*, escludendo un numero grandissimo di forme.

Questo lavoro induttivo è stato sopratutto importante, perchè, mentre, prendendo in esame tutti gli animali che succhiano sangue all'uomo ha abbracciato il problema in tutta la sua estensione, ha permesso poi di ridurre enormemente il numero delle forme che con fondamento potevano ritenersi propagatrici della malaria umana.

Passate così in rassegna tutte le forme incriminabili e determinate tutte quelle più o meno sospette, su queste ultime io e i miei collaboratori abbiamo diretto a gran preferenza le osservazioni e gli esperimenti.

I metodi usati per queste ricerche e scelti come i migliori dopo lunghissime prove, sono stati esposti in un Capitolo speciale. Poi, per essere facilmente seguito dal lettore nei Capitoli successivi, supponendo per un momento di aver già dimostrato che le sole specie di zanzare capaci di propagare la malaria siano gli *Anopheles*, ho dedicato allo studio degli *Anopheles* due Capitoli. Nel primo mi sono occupato della loro sistematica e della loro anatomia, nel secondo ho trattato dei loro costumi.

Premesse queste cognizioni, sono venuto poi a riferire gli esperimenti compiuti per dimostrare che tutti gli *Anopheles* propagano la malaria dopo di essersi infettati pungendo l'uomo e che nessun altro animale succhiatore di sangue può fare altrettanto.

Questa parte negativa delle esperienze è stata la più lunga e la più difficile e ritengo che non sia la meno importante.

Per quanto io sappia che in generale poco valore si deve attribuire alle prove negative, le quali lasciano sempre il dubbio che un giorno un risultato contrario possa venire a distruggerle, pure in questo caso le indagini sono state così numerose, l'esito sempre così costantemente uniforme che mi pare si possa riporre in esse la nostra fiducia. Queste prove negative valgono a dimostrare che la questione degli animali succhiatori di sangue è stata studiata completamente sotto tutti gli aspetti, e tolgono il timore che si possa ancora trovare qualche fatto capace di diminuire l'importanza dei risultati ottenuti.

I dati degli esperimenti avrebbero avuto un carattere empirico se non fossero stati accompagnati e seguiti costantemente dalle osservazioni dirette a seguire il ciclo evolutivo dei parassiti malarici umani nel corpo delle zanzare malarifere. Ho potuto pertanto stabilire che il parassita malarico compie nel corpo della zanzara soltanto la sua generazione sessuata, facendo così rientrare anche i parassiti della malaria sotto la legge generale che governa la riproduzione di tutti gli esseri.

In un Capitolo successivo ho raccolto tutte le obiezioni, che mi sono state mosse mentre andavo comunicando i risultati ottenuti. Di tutte ho tenuto conto e coi fatti alla mano ho cercato di rispondere ad esse nel miglior modo.

Infine accennando alla profilassi, ho fatto spiccare come si potranno ottenere immensi vantaggi curando l'uomo specialmente nei mesi in cui non vi sono *Anopheles* infetti, ma non ho taciuto che almeno nel momento attuale, non bisogna affidarsi unicamente a questo mezzo.

Questo è l'ordine che ho seguito nell'esporre i risultati dei miei studî; certamente parecchie ripetizioni sono riuscite inevitabili, ma mi lusingo che quanto ho voluto dimostrare appaia evidente.

***

Nella nuova stagione malarica che comincierà tra poco, è necessario non soltanto portare la nuova scoperta nel campo pratico, ma anche estendere le osservazioni già fatte.

Quanto è stato asserito è certamente esatto, ma alcuni punti non sono ancora chiariti con precisione sufficiente; *sopratutto resta a spiegare coll'appoggio dei fatti l'andamento della stagione malarica in rapporto colla quantità degli Anopheles infetti.*

Questo punto fu oggetto di accuratissime ricerche da parte di Dionisi ed io sono dolente che circostanze, indipendenti dalla nostra volontà, mi abbiano impedito di qui riprodurre per intero il suo lavoro, che completa il mio.

In ogni modo il lavoro di Dionisi uscirà anch'esso tra poco ed io mi auguro che trovi imitatori, perchè è indispensabile che lo studio fatto per una sola epidemia sia esteso a molte altre al fine di dissipare qualunque dubbio, precisare le difficoltà che restano da superare e dirigere la lotta che, con piena fiducia nella vittoria, abbiamo impegnato contro la malaria.

# LETTERATURA ([a]).


1. Anonimo. *The malaria Expedition to Sierra Leone.* British Medical Journal, 26 agosto 1899, pag. 568; 2 settembre, pag. 608; 9 id. id., pag. 674; 16 id. id., 746; 23 id. id., 798; 30 id. id., 869; 14 ottobre, id. 1033.
2. Bignami e Bastianelli, *Studî sull' infezione malarica.* Estratto dal Bullettino della R. Accademia medica di Roma. Anno XX, 1893-94.
3. Id. Id. *Sulla struttura dei parassiti malarici e in specie dei gameti dei parassiti estivo-autunnali. — Sullo sviluppo dei parassiti della terzana nell'Anopheles claviger.* Atti della Società per gli studî della malaria. Estratto dal vol. I, 1899.
4. Bonizzardi. *La palude ed i varî sistemi di coltivazione del riso.* Città di Castello, 1889.
5. Celli. *La malaria secondo le nuove ricerche.* Roma, 1899. — N'è uscita una seconda edizione accresciuta e corretta nel marzo 1900.
6. Ficalbi. *Venti specie di zanzare (Culicidae) italiane, classate, descritte e indicate secondo la loro distribuzione corografica.* Bollettino della Società entomologica italiana. Anno XXXI, 1899.
7. Grassi, Bignami e Bastianelli. *Ciclo evolutivo delle semilune nell' Anopheles claviger ed altri studî sulla malaria.* Atti della società per gli studî della malaria. Roma, 1898-99.
8. Id. Id. Id. *Coltivazione delle semilune malariche dell' uomo nell' Anopheles claviger* Fabr. (*sinonimo Anopheles maculipennis* Meig.). R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VII, 2° sem., ser. 5ª, fasc. 11° (Seduta del 4 dicembre 1898).
9. Id. Id. Id. *Ulteriori ricerche sul ciclo dei parassiti malarici umani nel corpo del zanzarone.* R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VIII, 1° sem., ser. 5ª, fasc. 1°. Seduta dell' 8 gennaio 1899). (Estratti pubblicati il 23 dicembre 1898)
10. Id. Id. Id. *Resoconto degli studî fatti sulla malaria durante il mese di gennaio.* R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VIII, ser. 5ª, 1° sem., fasc. 3° (Seduta del 5 febbraio 1899).
11. Id. Id. Id. *Ulteriori ricerche sulla malaria.* R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VIII, ser. 5ª, 1° sem., fasc. 9° (Seduta del 7 maggio 1899).
12. Grassi e Dionisi. *Il ciclo evolutivo degli emosporidi.* R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VII, 2° sem., ser. 5ª, fasc. 11° (Seduta del 4 dicembre 1898).
13. Grassi. *Rapporti tra la malaria e peculiari insetti* (2ª edizione). Policlinico, vol. V-VII, anno 1898 (pubblicato notoriamente ai primi di ottobre).
14. Id. *Rapporti tra la malaria e peculiari insetti* (zanzaroni e zanzare palustri). R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VII, 2° sem., ser. 5ª, fasc. 7° (Comunicazioni pervenuti all' Accademia prima del 2 ottobre 1898).
15. Id. *La malaria propagata per mezzo di peculiari insetti* (2ª Nota). R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VII, 2° sem., ser. 5ª, fasc. 9° (Seduta del 6 novembre 1898).
16. Id. *Rapporti tra la malaria e gli artropodi.* R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VII, 2° sem., ser. 5ª, fasc. 11° (Seduta del 4 dicembre 1898).
17. Id. *Ancora sulla malaria.* R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VIII, ser. 5ª, 1° sem., fasc. 12° (Seduta del 18 giugno 1899, pubblicata il 22 giugno 1899).


([a]) Nuttall ha fornito una bibliografia completa, alla quale rimando spesse volte il lettore: io qui mi limito perciò a citare quei lavori che hanno più particolare importanza per le quistioni svolte nella presente Monografia.

18. Grassi. *Ancora sulla malaria.* R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VIII, 2° sem., ser. 5ª, fasc. 6° (Presentato per la stampa l'11 settembre). (Comunicazioni pervenute all'Accademia sino al 17 settembre 1899).
19. Id. *Le recenti scoperte sulla malaria esposte in forma popolare.* Rivista di scienze biologiche, fasc. 7° (7 luglio 1899).
20. Id. *Osservazioni sul rapporto della seconda spedizione malarica in Italia, presieduta dal prof. Koch, composta, oltre che dallo stesso Koch, dal prof. Frosch, dal dott. Ollwig e coadiuvata dal prof. Gosio, direttore dei Laboratorî di Sanità del Regno d'Italia.* Parte 1ª. R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VIII, ser. 5ª, 2° sem., fasc. 8° (Comunicazioni pervenute all'Accademia prima del 15 ottobre 1899).
21. Id. *Idem.* Parte 2ª. R. della R. A. dei Lincei, Classe di scienze fis., mat., nat., vol. VII, ser. 5ª, 2° sem., fasc. 9° (Seduta del 5 novembre 1899) (Gli estratti furono pubblicati prima del 15 ottobre 1889).
22. Grassi e Feletti. *Contrib. allo studio dei parassiti malarici.* Atti dell'Accademia Gioenia in Catania, vol. V, ser. 4ª, 1890.
23. M. T. I. Grellet. *L'influence antimalarique de la chaux.* Revue scientifique. 4ᵉ sér. tome 12, n. 17 (Deuxième semèstre) 21 octobre 1899.
24. Koch. Deutsche med. Wochenschrift. 2 Februar e 15 September 1899.
25. Id. Zeitschrift f. Hygiene 32 Bd.
26. Id. Deutsche med. Wochensch. V. 1900.
27. Laveran. Comptes rendus de la Société de Biologie. Série XIᵉ, t. I, 1899, n. 24.
28. Liebberz. Bericht d. Senckenb. naturforsch. Gesellschaft 1899, pag. 105.
29. Linch Arribalzaga Felix, Revista del Museo de la Plata. Tomo I, pag. 345 y siguientes. — *Dipterologia Argentina — Culicidae.*
30. Macdonald. British Medical Journal. 16 settembre 1899.
31. Marchiafava e Bignami. *Sulle febbri malariche estivo-autunnali.* R. Accademia medica di Roma, anno XVIII, fasc. V, 1892.
32. Nuttall. Centralblatt f. Baktr. Parasitenk. u. Infektionskrank. I Abth. XXV, XXVI e XXVII Bd.
33. Ross. British Medical Journal. 18 december 1897, 26 february 1898, 1 Juli 1899.
34. Id. *Report on the Cultivation of Proteosoma.* Calcutta (Data: 21 May 1898).
35. Id. *Preliminary Report on the Infection of Birds with Proteosoma* ecc. (Data: 11ᵗʰ. October 1898).
36. Id. Annales de l'Institut Pasteur 24 Février 1899 e Nature Aug. 3, 1899.
37. Schaudinn. Sitzungs-Berichte der Gesellschaft naturforschender Freunde zu Berlin 1899. N. 7.
38. Schwalbe. *Beiträge zur Malaria Frage. Die Malaria und die Mosquitos.* Berlino 1900.
39. Siedlecki. *Étude cytologique et cycle évolutif de l'Adelea ovata.* Annales de l'Institut Pasteur. N. 2, 25 février 1899.
40. Ziemann. *Ueber Malaria und andere Blutparasiten.* Jena 1898.

## ADDENDA.

41. Dionisi. *La malaria di alcune specie di pipistrelli.* Atti della Soc. per gli studî della malaria. 1899.
42. Giles. *A description of the Culicidae employed by Ross in his investigations on malaria.* Journal of Tropical Medicine. October 1899.
43. Gosio. *La malaria di Grosseto nell'anno 1899.* Policlinico vol. VII, marzo 1900 (uscito alla fine di marzo 1900).
44. Mesnil. *Essai sur la classification et l'origine des sporozoaires.* Cinquantenaire de la Société de Biologie, volume jubilaire publié par la Société.
45. Nuttall. *On the Role of Insects.* Johns Hopkins Hospital Report, vol. VIII (1 oct. 1899).

46. Ross, Annett and Austen. *Report of the Malaria Expedition of the Liverpool School of Tropical Medicine.* Liverpool 1900.
47. Strachan. The Journal of Tropical Medicine. 15 december 1899.
48. Labbé. *Sporozoa* uel *Das Tierreich.* 5 Lieferung. Berlin 1899.
49. Meinert. *De Eucephale Myggelarver* nei D. K. Danske Videnskabernes Selskabs Skrifter. Sjette Rackke. Bind Tredje. Copenaghen 1885-86, pag. 369.
50. Pagliani. Ingegnere igienista nn. 5-6, 1900.
51. Testi. Giornale medico del R. Esercito. Anno XLVIII, n. 3 (31 marzo 1900).
52. Laveran. La semaine médicale. 20e année, n. 14, 1900.
53. Lühe. Centralblatt f. Bakt. E. A. Bd. 27, nn. 11, 12, 13, 1900.
54. Schaudinn. *Untersuch. ü. d. Generationswechsel bei Coccidien* nei Zool. Jahrbüch. Abth. f. Anat. u. Ontog. XIII Bd. 2 H. 1900 (22 gennaio)
55. Giard. *Sur le dévoloppement parténogénetique de la microgamete des metazoaires.* Comptes Rendus de la Société de Biologie. XI, S. T. I., n. 32, 1899.
56. Dionisi A. *Sulla biologia dei parassiti malarici nell'ambiente.* Policlinico 1898.

---

*Aggiunta durante la revisione delle stampe.*

Dopo che ebbi incominciato ad usare invece della soluzione di formalina semplice, la soluzione di formalina e cloruro di sodio, la mia attenzione fu attratta in modo speciale su certi corpi particolari che si trovano a grandissima preferenza nel tubolo intermedio delle ghiandole salivali, subito dietro il collo, nel lume del tubolo o dentro le cellule che lo tappezzano. Qualche volta si trovano sparsi per tutta la parte dilatata del lume del tubolo intermedio, qualche volta raccolti in poche cellule di questo tubolo stesso. Raramente si riscontrano in singole cellule degli altri due tuboli.

Questi corpi hanno una indiscutibile somiglianza cogli sporozoiti, però possono essere di differente lunghezza, di raro più lunghi di essi, in generale più corti (lunghi cioè da 5 a 10 $\mu$). Alle volte sono bastoncelliformi, alle volte fusiformi, perfino con tale aspetto alla parte centrale da far credere alla presenza di un nucleo (IV. 14 *a*). Talora si presentano isolati, talora in fascetti, come gli sporozoiti; non sono mai molto abbondanti.

Ciò che sembra caratterizzare questi corpi è che trattandoli col solito metodo, vale a dire sostituendo lentamente picrocarminio e glicerina alla miscela di formalina e cloruro di sodio, non si riesce quasi mai a conservarli perchè rapidamente si dissolvono.

Aggiungasi che nel lume del tubolo intermedio delle ghiandole salivali si trovano non di raro piccoli mucchietti di granuli, e si riscontrano anche altre forme, che sembrano di passaggio tra i granuli e i corpi in discussione.

Perciò supposi che questi corpi fossero sporozoiti, i quali andassero distruggendosi per essere rimasti nelle ghiandole salivali troppo a lungo, come faceva pensare l'averli trovati una volta in un *Anopheles claviger* ibernante raccolto alla metà di gennaio a Locate Triulzi (Lombardia), e press' a poco nel dieci per cento degli *Anopheles* egualmente ibernanti o appena usciti dall'ibernazione, raccolti durante i mesi di febbraio e marzo, nei dintorni di Roma.

Un esperimento riuscito negativo su me, sullo studente Noè e sopra una donna ([a]) mi fa credere che tali corpi non siano forse capaci di produrre all'uomo la malaria, e ciò è in accordo col fatto, omai ammesso da tutti, che in realtà non si verifica quella epidemia malarica primaverile, che una volta si credeva esistesse.

Successivamente è entrato a poco a poco nel mio animo il sospetto che i corpi in questione, invece di essere sporozoiti, rappresentino una peculiare forma del secreto delle ghiandole salivali, forma che probabilmente si produce quando il secreto rimane a lungo dentro di esse. Mi ha confermato in quest'ultima opinione la circostanza che alla fine di aprile ho riscontrato i corpi, benchè molto scarsi, in 3 sopra 98 *A. claviger* raccolti a Tortreponti, presumibilmente nati nello stesso mese di aprile, per quanto già forniti di uova mature o quasi. Si intende che nessuno di questi 98 *Anopheles* presentava parassiti malarici in via di sviluppo, o sporozoiti sicuri nelle ghiandole salivali.

Suppongo che i pretesi sporozoiti riscontrati da Koch in *Anopheles* provenienti da luoghi non malarici, non siano altro che i corpi di cui ho parlato fin qui, i quali facilmente possono venir confusi cogli sporozoiti sicuri, anche da un occhio esperto.

([a]) Ci facemmo pungere da un gruppo di *Anopheles,* il quale presentava, secondo un saggio preliminare, nella proporzione di due su tre individui i corpi in discussione.

## SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE

Tutte le figure, tranne alcune per le quali fornirò indicazioni speciali, furono copiate con la camera lucida a livello del tavolo su cui poggia il microscopio, col noto piano inclinato. Le più difficili furono scrupolosamente disegnate dal mio abile preparatore sig. Giuseppe Riccioli.

Nella spiegazione di tutte le figure:

*S.* = Laverania malariae, detta comunemente parassita semilunare. È il parassita delle febbri estivo-autunnali, dette anche terzana maligna, bidua, tropica, perniciosa.

*T.* = Plasmodium vivax, ossia parassita della terzana detta anche terzana mite o primaverile.

*Q.* = Plasmodium malariae, ossia parassita della quartana.

Tutte le figure si riferiscono a preparati ottenuti coll' *A. claviger*, eccetto poche eccezioni che si notano a parte.

Per brevità le figure vengono richiamate col semplice numero. Quando devo richiamare varie figure in ordine progressivo indico i soli numeri estremi della serie, separandoli con una linea. Così per es. 2-30 richiama tutte le figure da 2 a 30.

I numeri che si trovano tra parentesi dopo le singole figure indicano i giorni e le ore in cui il parassita è restato nel corpo dell' *Anopheles* a temperatura varia da circa 24° a circa 30° C. Se si tratta di giorni, dopo la cifra ho messo la lettera *g.*; se di ore, la lettera *o*.

## Tavola I.

Tutte le figure furono copiate dal microscopio Koristka: Ob. apoc. 2 mm./$_{1.4}$; tubo chiuso (accorciato); Oc. 8 comp., eccetto le figure da 72 a 95 (comprese) che vennero copiate coll' Oc. 12 comp., e le figure da 96 a 111 (comprese).

Fig. 1-29; 96-101; 106-111. Metodo di Romanowski.

Fig. 102-105. Metodo di Grassi-Feletti (riportate dalle figure del 1890).

Le altre figure sono tolte da sezioni dell' intestino (parte dilatata dello stomaco), conservato quasi sempre col sublimato e cloruro di sodio: le sezioni sono state colorite coll' emallume, o coll' ematossilina ferrica con, o senza eosina.

Le fig. 32-95 rappresentano sezioni dei parassiti (amfionti).

Le fig. 96, 97, 98, 99, 101, 109 sono tolte da Ziemann.

In generale nelle figure la massa residuale viene rappresentata colorita.

1. *S.* Semiluna con due nuclei (citopartenogenesi?). Dal sangue umano.
2. *S.* Macrospora (macrogamete). Dal sangue umano.
3. *S.* Macrospora diventata tondeggiante. ($^1/_2$ *o.*).
4. *S.* Anteridio (microgametogeno, microgametocito). Dal sangue umano.
5. *S.* Microspore (flagelli, microgameti) in formazione. ($^1/_2$ *o.*).
6. *S.* Microspore pronte a distaccarsi dal residuo del microgametocito. ($^1/_2$ *o.*).

7-29. *S.* Amfionte ancora libero nel lume dell' intestino. Formazione del vermicolo e vermicolo (oocinete).

7-13. (12 *o.*).

14-25. (24 *o.*).

26-29. (32 *o.*).

Nella fig. 29 i vermicoli sono in mezzo al sangue in digestione avanzata.

30. *T.* Vermicoli, in mezzo al sangue in digestione avanzata. La figura è stata fatta combinando insieme varie sezioni. (32 *o.*).

31. *S.* Vale la dicitura della figura precedente.

*ep. int.* = epitelio intestinale.

*cont. int.* = contenuto intestinale.

Si vedono due parassiti già penetrati nel margine cuticolare.

Per brevità, di una cellula epiteliale è stato disegnato quasi solamente il nucleo.

*Le figure da 32 a 95 rappresentano amfionti nella parete dell'intestino.*

32. *S.* Sezione quasi orizzontale, superficiale.
*ep. int.* = epitelio intestinale.
*par.* = parassita, cioè amfionte.
Uno dei due amfionti richiamati da *par.* sembra fuori dell'intestino, perchè sporgente da esso. Si distingue un altro amfionte non richiamato da *par.*; esso rassomiglia ancora molto ad un vermicolo. (2 *g.*).

33-36. *S.* (2 *g.*).

37-50. *S.*, eccetto 45 e 49 molto probabilmente riferentisi a *T.*
*lim. par. int.* = limite della parete intestinale.
La figura 47 rappresenta la prima sezione del parassita (a figura di callotta). La lacuna, specialmente nella fig. 44, è probabilmente esagerata, per effetto della preparazione. (3-3 $1/2$ *g.*).

51-54. *S.*
*par.* = parassita (amfionte).
*lim. p. int.* = limite della parete intestinale.
La sezione rappresentata dalla fig. 54 non fu copiata intera.
(4-4 $1/2$ *g.*, eccetto il parassita (*par.*) più piccolo della fig. 53 che è di 2 *g.*).

55-60. *S.* Anche queste sezioni furono copiate soltanto in parte. In alcune figure si trova indicata per intero la capsula che involge il parassita. (5-6 *g.*).

61. *T.* In questa come nelle figure seguenti:
*vac.* = vacuolo.
*mas. res.* = massa residuale.
(6 *g.*).

62. *T.*? L'*Anopheles* da cui proviene era stato preso libero.

63. *S.* Da una sezione trasversale di un *Anopheles.*
*par.* = parassita.
*c. ad.* = corpo, od organo adiposo.
(7 *g.*).

64. *T.*
(7 *g.*).

65. *T.*? Da un *Anopheles* restato parecchi giorni a circa 19°-22°, senza nutrirsi. (Figura alquanto schematizzata).

66-68. *T.* (9 *g.*).

69. *S.* (9 *g.*).

70. *T.* (9 *g.*).

71. *S.* (Trattamento con formalina ed ematossilina ferrica). Dalle figure pubblicate con Bignami e Bastianelli. (4 *g.*).

72-75. *S.* Le figure *a* e *b* 75 rappresentano due strati di un'unica sezione. (3 *g.*).

76-94. *S.* Piccolissimi tratti di sezioni per mostrare come si moltiplica il nucleo. (3-5 *g.*).

95. *S*. Tratto contenente il pigmento di quella massa citoplasmatica la quale, come ho spiegato nel testo, resta indivisa (4 *g*).

96-111. Dal sangue umano.

96. *T*. Si confronti questa figura di Ziemann (metodo di Romanowski) con la fig. 102 (metodo di Grassi e Feletti).

97. *Q*. Mononte nell'inizio della politomia conitomica (sporulazione).

98. *T*. Questa figura di Ziemann è stata ripetutamente ottenuta anche da me.

99. *T*. Si confrontino le fig. 97 e 99 con le fig. 103 e 104 ottenute col metodo di Grassi e Feletti.

100. *Q*. Mononte in politomia conitomica (sporulazione).

101. *T*. Mononte in politomia conitomica (sporulazione).

102-105. *Q*. La fig. 105 rappresenta un mononte in politomia conitomica (sporulazione). Si confronti questa figura con la seguente ottenuta col metodo di Romanowski.

106. *Q*. V. fig. precedente.

107. *T*. Gamete in maturazione?

108. *T*. Gamete quasi maturo?

109. *T*. Gamete maturo.

110, 111. *Q*. Mononti.

---

## Tavola II.

Tutte le figure, per le quali non sono date indicazioni speciali, sono co
microscopio Koristka; tubo accorciato; Ob. apoc. 2 mm./$_{1.4}$; Oc. 8 comp.
Tutte le figure sono tolte da sezioni, eccetto le fig. 10 *a* e *b*, 11, 12

In tutte le figure:
*m. res.* = massa residuale.

1, 2. *T.* Amfionte. Sublimato con traccia di formalina; ematossilina ferrica e (9 *g.*).
3-5. *S.* Amfionte. Sublimato; emallume. (9 *g.*).
6. *T.* probabilissimamente. Amfionte. Formalina; emallume. (9 *g.*?).
7. *S.* Amfionte. Sublimato; emallume. (9 *g.*).
8. *T.* probabilissimamente. Amfionte. Formalina; emallume. (9 *g.*?).
9. *S.* Amfionte maturo. Sublimato; ematossilina.
10*a*. *S.* Sporozoiti usciti dalle capsule nelle lacune interviscerali. Metodo d nowski.
10*b*. *S.* Uno degli sporozoiti, di cui a fig. 10 *a.*, copiato coll' Oc. apoc. 12
11. *S.* Porzione di un amfionte quasi maturo, dilacerato, disseccato e qui rito col metodo di Romanowski.
12. *S.* Sporozoiti contenuti nelle ghiandole salivari. Metodo di Romanows
13. *S.* Sezione della capsula di un amfionte contenente ancora residui di tazione. (12 *g.*).
14 *a-e*. *T.* Alcune sezioni di uno stesso parassita. Ob. 8; Oc. 4; Korist accorciato. (9 *g.*).
15 *a-j*. *S.* Serie di sezioni di uno stesso parassita. Ob. 8; Oc. 4; Korist accorciato. (9 *g.*)
16 *a-e*. *S.* Alcune sezioni di uno stesso parassita. Ob. 8; Oc. 4; Korist accorciato. (9 *g.*).
17. *T.*? Capsula contenente ancora una grande massa residuale col pigment giallo-bruni.
18-24. *S.* Sezioni di ghiandole salivari contenenti sporozoiti.
*c. ad.* = corpo adiposo.
*cu.* e *cut.* = cuticola tappezzante il lume del tubulo.

*lac. art.* = lacuna artificiale, cioè dipendente dalla preparazione.

*sec.* = secreto delle ghiandole salivari o ancora dentro le cellule o già libero nel lume del tubulo.

Sublimato alcoolico-acetico; emallume.

18. Parte di una sezione del tubulo dorsale nel primo tratto della metà distale.
19. Sezione del tubulo intermedio nel tratto dilatato.
20. Altra sezione del tubulo intermedio nel tratto dilatato.
21. Parte di un' altra sezione del tubulo intermedio nel tratto dilatato.
22. Parte di una sezione della metà prossimale del tubulo ventrale.
23. Parte di una sezione della metà distale del tubulo ventrale.
24. Sezione della parte distale del collo del tubulo intermedio.

25. *S.* Parte di una sezione subfrontale di un *Anopheles*. Ob. 6; Oc. 4; tubo accorciato.

*c. ad.* = corpo adiposo.
*mu.* = muscolo.
*suc.* = parete del sacco principale.
*t. d.* = tubulo dorsale.
*t. int.* = tubulo intermedio.
*t. v.* = tubulo ventrale.
*tr.* = trachea.

Sublimato alcoolico-acetico; emallume ed eosina.

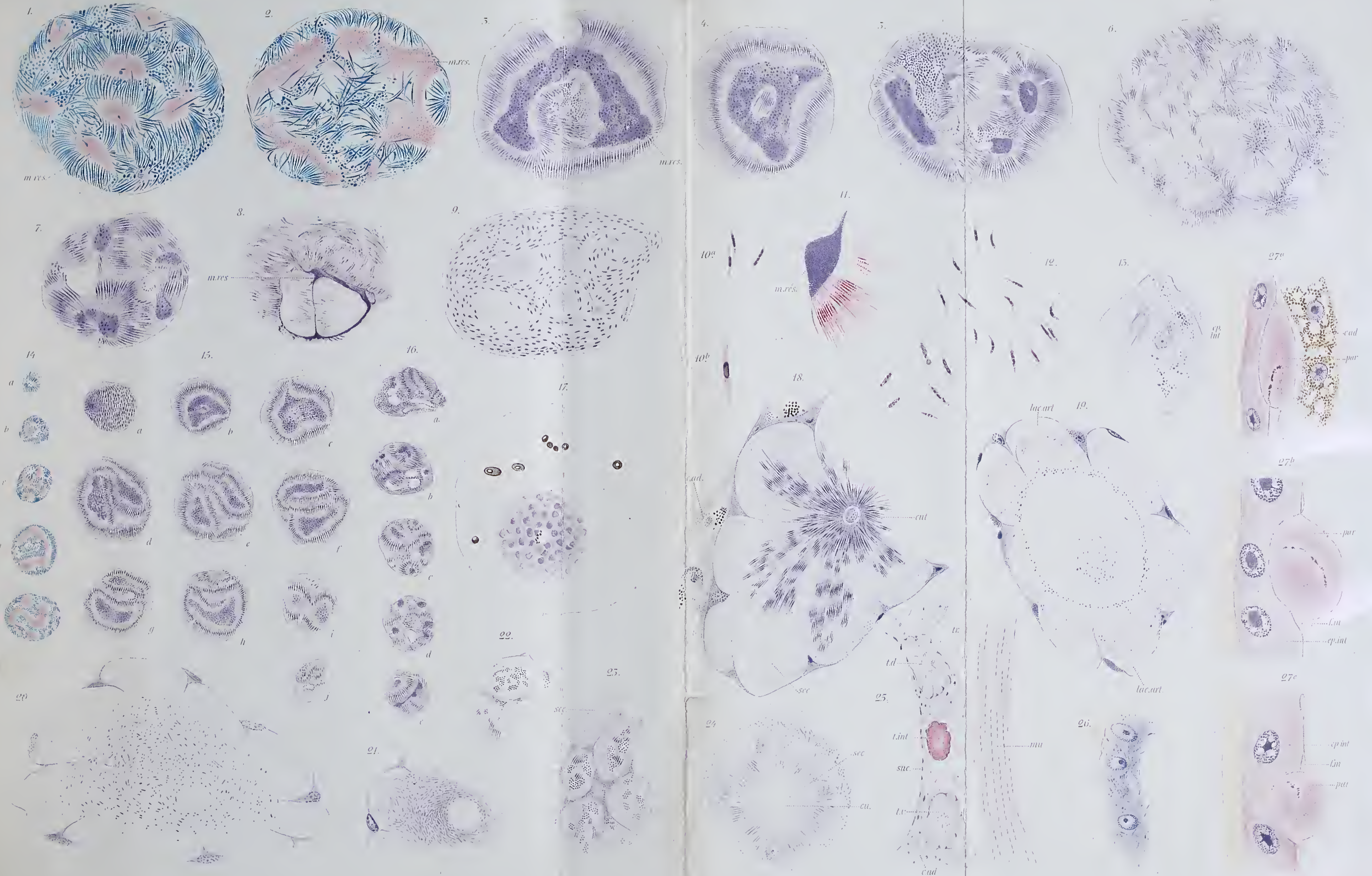
Gli sporozoiti sono scarsi.

26. *S.* Da una sezione dell' intestino anteriore: sporozoiti nella parete.

27 *a*, *b* e *c*. *S.* Sezioni della parte dilatata dello stomaco per mostrare la posizione dell' amfionte (*par.*) Si distingue l' epitelio intestinale (*ep. int.*) e la tunica elastico-muscolare. Il sottilissimo strato basilare amorfo tra la tunica epiteliale e la tunica elastico-muscolare è quasi dappertutto indistinguibile.

*c. ad.* = corpo adiposo.
*f. m.* = fibre muscolari.

---



# Tavola III.

Tutte le figure per le quali non sono date indicazioni speciali, sono copiate a fresco dal microscopio Zeiss: tubo accorciato; Ob. $^1/_{15}$ imm. omog.; Oc. 4.

1 *a-l*. *S*. Vermicoli in via di formazione o già formati. Soluzione di cloruro di sodio e albume. (24 *o*.).
2 *a-c*. *S*. Vermicoli. Soluzione di cloruro di sodio e albume. (35 *o*.).

*Gli amfionti rappresentati nelle figure da 3 in poi stavano nella parete intestinale.*

3 *a-d*. *S*. Amfionti. Soluzione di cloruro di sodio e formalina. (48 *o*.).
4 *a-d*. *S*. Amfionti. Formalina. Le due figure 4 *b* rappresentano differenti piani di uno stesso individuo (60 o.).
5, 6. *S*. Amfionti. Soluzione di cloruro di sodio e formalina. (3-3 $^1/_2$ *g*.).
7 *a-d*. *S*. Amfionti. Soluzione di cloruro di sodio e formalina. (5 *g*.).
*a*. porzione dell'amfionte.
*b*. un tratto del reticolo alla faccia interna della capsula.
*c*. alcune creste alla faccia interna della capsula.
*d*. punteggiatura della superficie esterna della capsula.
8. *S*. Porzione di un amfionte. Soluzione di cloruro di sodio. (5 *g*.).
9. *S*. Porzione di un amfionte. Soluzione di cloruro di sodio e formalina. (6 *g*.).
10. *S*. Porzione di un amfionte. Soluzione di cloruro di sodio e formalina. (7 *g*.).
11. *S*. Porzione di un amfionte. Formalina. (8 *g*.).
12. *T*. probabilissimamente. Porzione di un amfionte ancora lontano dalla maturanza. Soluzione di cloruro di sodio e albume: vapori di acido osmico.
13 *a*, *b*. *T*. probabilissimamente. Sezioni ottiche di un amfionte quasi maturo. Soluzione di cloruro di sodio e albume: vapori di acido osmico.
*a*. strato superficiale.
*b*. strato medio.
14. *T*. probabilissimamente. Amfionte maturo. Soluzione di cloruro di sodio e albume: vapori di acido osmico.
15. *S*. Capsula apertasi dalla quale fuoriescono gli sporozoiti. Soluzione di cloruro di sodio e albume: vapori di acido osmico. (10 *g*.).
16. *S*. Capsula nella quale sono restati soltanto pochi sporozoiti. Sta attaccata alla parete intestinale per una sorta di peduncolo. Formalina. (11 *g*.).

17, 18. *S.* Capsule nelle quali sono restate masse residuali (una sola nella fig. 18). Formalina. (11 *g.*).

19. *T.* Sporozoiti diventati liberi dilacerando una ghiandola salivare. Formalina Ob. $1/_{15}$; Oc. 2; Koristka; tubo accorciato.

20. *S.* Capsula contenente i corpi bruni. Formalina; glicerina. (11 *g.*).

21. *S.* Una parte dei corpi bruni di una capsula. Formalina; glicerina.

22, 23. *T.* Alcuni corpi bruni trovati liberi. Formalina; glicerina. (13 *g.*).

24, 25. Parassita innominato che si riscontra nelle lacune del corpo dell'*Anopheles.*

24 *a-c.* Porzioni di un parassita aderente alla parete intestinale. Ob. $2/_{1-4}$; Oc. 4; Koristka; tubo accorciato.

*a* e *c*: sublimato e sale; poi emallume (tralasciato il colore).

*b'* e *b''*: a fresco, in formalina.

*ep. int.* = epitelio intestinale.

25. Massa plasmica libera da cui sono usciti parecchi sporozoiti; altri sono ancora dentro. Soluzione di cloruro di sodio. Ob. $1/_{15}$; Oc. 2; Koristka; tubo accorciato.

26, 27. Parassita innominato delle uova. Ob. $2/_{1.4}$; Oc. 4; tubo accorciato.

28. *T.?* Porzione di una capsula contenente i corpi giallo-bruni. Soluzione di cloruro di sodio e formalina.

29-32. *S.* Amfionti trattati col sublimato e poscia passati in glicerina. Quello rappresentato dalla fig. 31 mostra un'enorme massa residuale con tanti vacuoli, circondata da scarsissimi sporozoiti. Quello rappresentato dalla fig. 32 mostra gli sporozoiti come se fossero tutti allo stesso livello, mentre invece per vederli come sono figurati, occorre muovere la vite micrometrica.

33-37. *T.* Amfionti in soluzione di cloruro di sodio e formalina.

33. (50 *o.*).

34 e 35. (3 *g.*).

36 e 37. (4 *g.*).

38. *S.* Amfionte (*par.*) tra le cellule dell'epitelio intestinale.

39. Sezione semischematica dell' intestino per mostrare i rapporti dell'amfionte con la tunica elastico-muscolare. Dell'amfionte (*par.*) non è stata rappresentata che una parte del contorno.

*ep. int.* = epitelio intestinale.

*f. m.* = fibra muscolare.

*lac. art.* = lacuna artificiale tra la capsula e la tunica elastico-muscolare da un lato, l'epitelio intestinale con la relativa membrana basilare dall'altro; questa lacuna artificiale si è dunque formata esternamente alla sottilissima membrana basilare dell' epitelio e giova per stabilire la precisa posizione del parassita.

40. *S.* Sezione trasversale dell' intestino, presentante gli amfionti in differenti stadî di sviluppo. Ob. 4; Oc. comp. 4; Koristka; tubo accorciato.

41. *S.* Superficie esterna dell' intestino.

*par.* = amfionte.

*tr.* = trachea.



par
fm
ep.int
tr

## Tavola IV.

1, 2. Amfionti maturi di *Haemamoeba relicta* (*Proteosoma* del passero). Formalina 10 % e acido osmico. Koritska: tubo accorciato; 8 Comp.; 2/1. 4. Ap. Vale l'osservazione fatta per III. 32.
3. Uova di *A. bifurcatus*. (L'uovo è lungo 3/4 di mm. circa).
4. Uova di *A. claviger*. (L'uovo è lungo presso a poco come quello di *A. bifurcatus*).
5. Uovo di *A. claviger*. Ob. 4; Oc. 3; Koristka (tubo accorciato).
6. Larva di *A. claviger* veduta dalla faccia dorsale. Ob. 2; Oc. 2; Pratzmosky (tubo accorciato).
   *vent.* = ventaglio.
   *pap. an.* = papille anali.
   *set. an.* = setole anali.
7. Estremità posteriore di una larva di *A. claviger* veduta dalla faccia dorsale, a più forte ingrandimento che nella figura precedente.
   *st.* = stigma.
   *pet.* = pettine.
8. Ninfa di *A. claviger*.
9. Spaccato longitudinale schematico di *Anopheles* per mostrare la posizione dei visceri.
   *es.* = esofago.
   *gl. sal.* = glandola salivare.
   *suc. acc.* = sacco (succhiatore?) accessorio.
   *suc. princ.* = sacco (succhiatore?) principale.
   *col. st.* = collo dello stomaco.
   *p. dil. st.* = parte dilatata dello stomaco.
   *t. mal.* = tubi malpighiani.
   *il.* = ileo.
   *col.* = colon.
   *ret.* = retto.
   *zam.* = zampe.
10. Parte anteriore dell' intestino veduta dal lato ventrale, col sacco succhiatore principale spostato.
   *far.* = faringe?
   *es.* = esofago.
   *suc. acc.* = sacco (succhiatore?) accessorio.
   *suc. princ.* = sacco (succhiatore?) principale.
   *cech.* = cechi dello stomaco.
   *col. st.* = collo dello stomaco.


far
es
ecch
suc.acc
ipof
col.st
suc.princ
pal
l.inf
l.sup
mas
mand
oc
tr
t.esc
s.med
s.ang
d.escr
l.int
st
pet
pap.an
set.an
vent
gl.sal
suc.acc
col.st
col
suc.princ
p.dil.st
t.mal
il
ret
es
zam

# INDICE ALFABETICO

## degli autori, delle principali località e dei principali argomenti ecc.

D



E



F



G



H